

XZ .E68 Bd. 26

578.05
Z 35

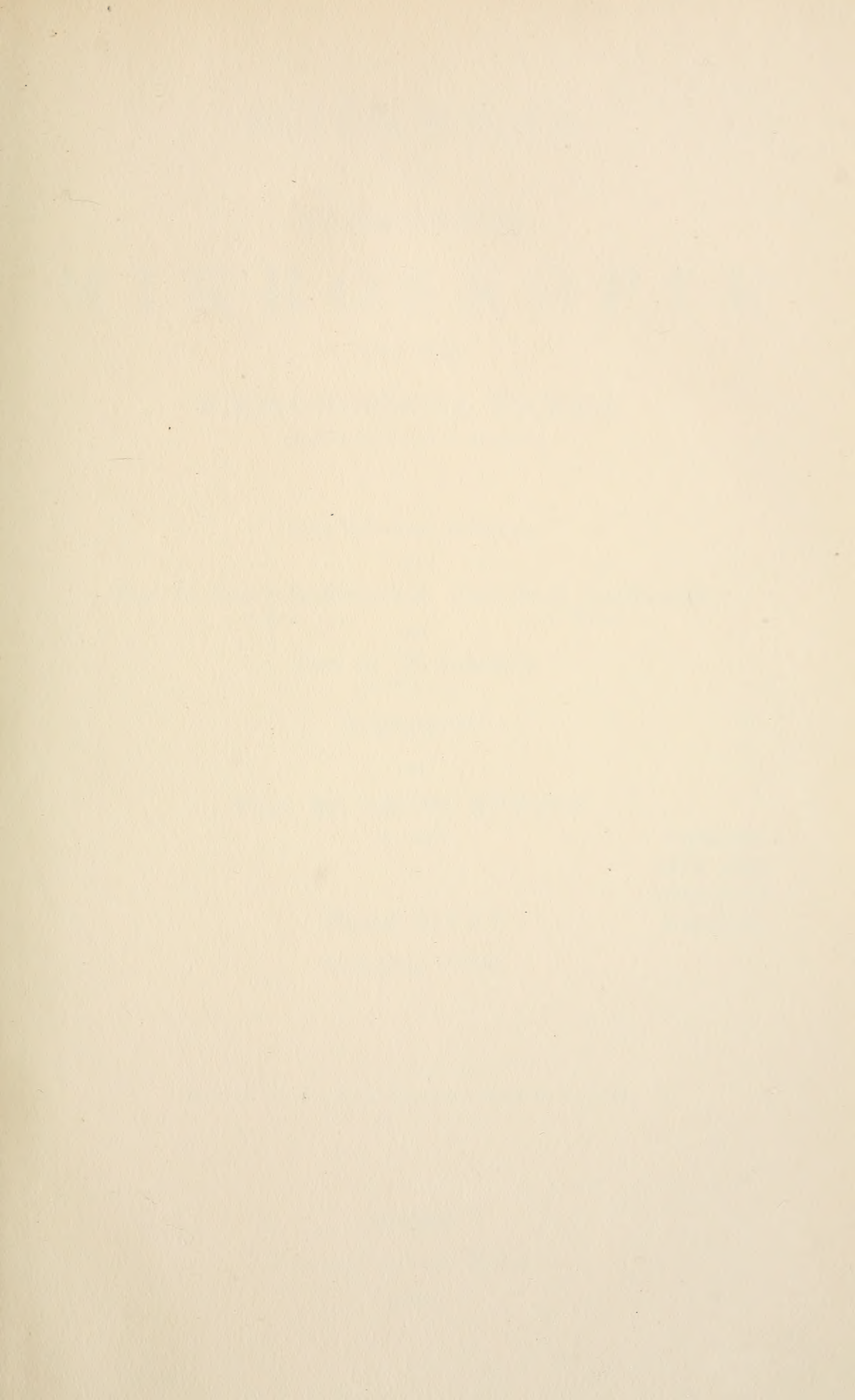
PRO SCIENTIA SALUTE POPULIQUE

LIBRARY OF
THE NEW YORK BOTANICAL GARDEN
Purchased
1909

Septemb 1899 R. W. Gibson Invt









ZEITSCHRIFT

FÜR

WISSENSCHAFTLICHE

MIKROSKOPIE

UND FÜR

MIKROSKOPISCHE TECHNIK

BEGRÜNDET VON W. J. BEHRENS

Unter besonderer Mitwirkung

von

Prof. Dr. Paul Schiefferdecker, in Bonn **Prof. Dr. E. Sommerfeldt** in Tübingen

und

Prof. Dr. W. Gebhardt
in Halle a. S.

herausgegeben

von

Prof. Dr. ERNST KÜSTER
in Kiel

LIBRARY
NEW YORK
BOTANICAL
GARDEN.

Band XXVI

(Jahrgang 1909)

Mit 66 Textabbildungen und 5 Tafeln

LEIPZIG

Verlag von S. Hirzel

1909

XL
.E68
Bd. 26

Alle Rechte vorbehalten.

Inhaltsverzeichnis.

I. Abhandlungen.

II. Referate.

Seite

Verzeichnis der Mitarbeiter
an Band XXVI.

C. U. Ariëns Kappers in Amsterdam.
Dr. W. Berg in Straßburg i. E.
Dr. K. Berliner in Gießen.
Dr. C. Fr. Bödecker in Berlin.
Dr. J. Boeke in Leiden.
Dr. G. Bonvicini in Tulln.
Dr. V. Brudny in Wien.
Prof. D. Carazzi in Padua.
Prof. L. E. Cavazza in Bologna.
Dr. Ch. Funck in Nancy.
B. Halle in Steglitz.
Dr. W. v. Ignatowsky in Berlin.
Prof. Dr. A. Johnsen in Kiel.
Stud. med. C. Kittsteiner in Würzburg.
Cand. med. R. Kowler in Jena.
Prof. Dr. R. Krause in Berlin.
Prof. Dr. E. Küster in Kiel.
Dr. H. Lebrun in Brüssel.
Prof. J. Lendvai in Temesvár.
Dr. O. Levy in Leipzig.
Prof. Dr. P. Martin in Gießen.
Prof. Dr. L. Martinotti in Bologna.
Prof. Dr. A. Maximow in St. Petersburg.
Prof. Dr. P. Mayer in Neapel.
Prof. Dr. A. Meyer in Marburg a. L.
B. Možejko in Symferopol (Krim).
Dr. V. Pöschl in Graz.

Dr. H. E. Radasch in Philadelphia.
Prof. Dr. B. Rawitz in Berlin.
Dr. W. Reidemeister in Berlin.
Dr. E. Savini in Berlin.
Frau Dr. Th. Savini-Castano in Berlin.
Dr. W. Scheffer in Berlin.
Prof. Dr. P. Schiefferdecker in Bonn.
Dr. E. Schoebel in Neapel.
Dr. G. Seliber in Paris.
Dr. H. Siedentopf in Jena.
Prof. Dr. E. Sommerfeldt in Tübingen.
E. O. Sommerhoff in Locarno.
Dr. L. W. Ssobolew in St. Petersburg.
Prof. B. Suzuki in Kyoto.
Prof Dr. H. Tafner in Besztercebánya.
Dr. Fr. Tobler in Münster i. W.
Dr. M. Wolff in Bromberg.



ZEITSCHRIFT
FÜR
WISSENSCHAFTLICHE
MIKROSKOPIE
UND FÜR
MIKROSKOPISCHE TECHNIK

BEGRÜNDET VON W. J. BEHRENS

Unter besonderer Mitwirkung

von

Prof. Dr. P. Schiefferdecker, in Bonn **Prof. Dr. E. Sommerfeldt** in Tübingen

und

Prof. Dr. W. Gebhardt
in Halle a. S.

herausgegeben

von

Prof. Dr. ERNST KÜSTER
in Kiel

Band XXVI, Heft 1

Heft 101

Ausgegeben am 10. Juni 1909

Mit 15 Textabbildungen und 1 Tafel

LEIPZIG
Königstrasse 2
VERLAG VON S. HIRZEL
1909

*Alle Sendungen von Beiträgen für die Zeitschrift erbittet man an den Herausgeber, **Herrn Prof. Dr. Ernst Küster in Kiel** (Bartelsallee 7); die Sendungen von Drucksachen durch die Post an denselben oder auf Buchhändlerwege durch die Verlagsbuchhandlung S. Hirzel in Leipzig.*

Inhalt.

Nachdruck verboten. Übersetzungsrecht vorbehalten.

Etwaiger Nachdruck aus dieser Zeitschrift findet ohne Erlaubnis und ohne Wissen von Herausgeber und Verleger statt.

Dieses Heft enthält eine Beilage von **Moritz Perles in Wien**, betreffend „Jagić, Atlas und Grundriß der klinischen Mikroskopie" und einen Prospekt über den IV. Ferienkurs für wiss. Mikroskopie in Jena.

Band XXVI. Heft 1.

LIBRAR
NEW YO
BOTANIC
GARDE

Die Herstellung von transparenter roter Leiminjektionsmasse.

Von

Prof. Rudolf Krause
in Berlin.

Hierzu eine Textabbildung.

An eine gute rote Leimmasse, die ja in der Mikrotechnik eine so außerordentlich große Rolle spielt, muß man folgende Anforderungen stellen:

1) Die Masse muß eine genügende Menge Farbstoff enthalten, so daß sie selbst in dünnster Schicht noch hinreichend tief gefärbt erscheint.

2) Die Masse muß transparent sein, d. h. sie muß diese Farbstoffmenge ausschließlich in gelöster Form enthalten.

3) Der Farbstoff darf nicht durch die Gefäßwand diffundieren, er muß in gelöster, aber indiffusibler Form in der Masse enthalten sein.

4) Die Masse muß so konzentriert sein, daß sie das Gefäßlumen ausfüllt und bei der Nachbehandlung möglichst wenig schrumpft.

Daß eine Masse, die diesen Anforderungen entspricht, sehr schwer herzustellen ist, ist eine alte Erfahrung. Am schwierigsten ist es der vorletzten Forderung zu entsprechen und es sind eine große Anzahl von Vorschriften in dieser Beziehung gegeben worden. Sie sind aber entweder zu kompliziert oder zu unsicher. Ein ein-

JUN 25 1909

faches und sicher zum Ziel führendes Verfahren dürfte deshalb allgemein willkommen sein.

Ich fertige mir seit Jahren meine Injektionsmasse selbst an und habe dabei noch niemals einen Mißerfolg erlebt. Dabei ist das von mir geübte Verfahren ein so einfaches, daß die Masse von jedem Diener hergestellt werden kann. Dasselbe ist im wesentlichen eine Modifikation einer vor Jahren von Fol beschriebenen, anscheinend aber nur sehr wenig geübten Methode, deren Prinzip darin besteht, daß man die Gelatineplatte ganz ähnlich wie ein mikroskopisches Präparat mit Boraxkarmin färbt und die Farbe in der Platte dann durch Behandlung mit Salzsäure fixiert.

Zur Vereinfachung und Erleichterung der ganzen Prozedur dient das neben abgebildete Gefäß ungemein. Es ist das ein rechteckiger Kasten von Weißblech, der 28 cm lang, 15 cm breit und 10 cm hoch ist. In den Kasten paßt ein mit Henkeln versehenes Sieb von gleicher Form, dessen Maße in allen Dimensionen 1 bis 2 cm geringer sind als die des Kastens. Der übergreifende Deckel ist mit Ausschnitten versehen, die in die Arme der Henkel passen. Es faßt dieses innere Sieb bequem 100 g trockene Gelatine, zu deren Färbung etwa 2 Liter Farblösung nötig sind.

Man bringt die angegebene Menge Gelatine, etwa 50 Platten, in das Sieb, setzt es in den Kasten ein und übergießt mit destilliertem Wasser. Nach einer bis 2 Stunden ist die Gelatine genügend gequollen, das Sieb wird herausgenommen und das Wasser eine $^1/_4$ bis $^1/_2$ Stunde lang abtropfen lassen.

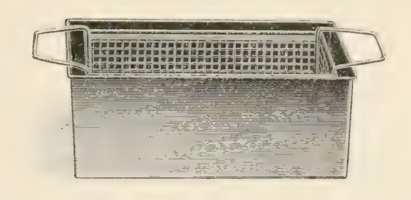
Zur Färbung dient folgendes Boraxkarmin. 100 g Borax werden in 2 Liter heißem destilliertem Wasser gelöst, 15 g fein pulverisiertes Karmin zugesetzt und tüchtig gekocht. Am nächsten Tag wird einfach vom Bodensatz abgegossen, ein Filtrieren ist unnötig.

Diese Lösung wird in den Kasten gegossen und das Sieb mit der gut abgetropften Gelatine in sie eingesenkt. Dann suche man durch Rütteln und Schütteln des Siebes die Luftblasen zwischen den Gelatineplatten möglichst zu entfernen, damit sie allseitig von der Farblösung umgeben werden.

Nach 48- bis 72stündigem Färben in dem bedeckten Kasten wird das Sieb herausgehoben, die Farblösung gut abtropfen lassen und zu späterem Gebrauch abgegossen. Dann füllt man den Kasten mit Leitungswasser, senkt das Sieb wieder ein und wäscht durch Schütteln die überschüssige Farblösung aus, was nach drei- bis viermaligem Wechseln des Waschwassers erreicht wird.

Nun folgt die Behandlung der gefärbten Gelatine mit Salzsäure, der einzige Punkt des ganzen Verfahrens, der einige Aufmerksamkeit erfordert. Ich benutze dazu eine 2prozentige Salzsäure und verwende zu ihrer Herstellung einfach Leitungswasser. Hauptsache ist, daß man die Säure in recht großer Menge verwendet und sie wechselt, sobald sie sich rot färbt.

In ein großes, nicht zu hohes Steingutgefäß bringe ich 5 bis 10 Liter 2prozentiger Salzsäure und behandele in ihm die mittlerweile aus dem Sieb entfernten gefärbten Gelatineplatten. Man nehme immer nur höchstens 5 bis 6 Platten auf einmal vor und bewege sie so lange in der Säure fortwährend hin und her, bis das Karmoisinrot umschlägt in Kirschrot. Ist das erreicht, so müssen die



Platten heraus, bleiben sie zu lange in der Säure, so wird die Masse zu hell.

Ich bringe dann die Platten wieder in das Sieb zurück und stelle sie zum Wässern, indem ich den Wasserleitungsschlauch zwischen Sieb und Kastenwand einführe. Man kann dann darauf rechnen, daß nach etwa $^1/_2$- bis einstündigem Wässern der Säureüberschuß aus den Platten entfernt ist. Läßt man schließlich das Wasser 3 bis 4 Stunden abtropfen, so ist die Masse zum Konservieren fertig.

Zu diesem letzteren Zweck kann man entweder die einzelnen Platten, die bei einigermaßen vorsichtigem Vorgehen ganz bleiben, herausnehmen und an einem kühlen Orte trocknen. Oder aber man schmilzt, was ich entschieden vorziehe, die Masse auf dem Wasserbade ein und konserviert durch Zusatz eines haselnußgroßen Stückes Kampfer. Diese einfache Konservierung reicht vollkommen aus. Man darf nur nicht, wie man das so oft sieht, den Kampfer auf die erstarrte Masse einfach auflegen, sondern man muß das Kampferstück in die noch flüssige, auf dem Wasserbad befindliche Masse hineinbringen, so daß etwas Kampfer in Lösung geht. Wir haben die so konservierte Masse monatelang aufbewahrt, ohne daß sich die ge-

ringste Spur von Verschimmelung zeigte und müssen deshalb im Gegensatz zu Hoyer diese einfache Konservierungsmethode der Konservierung mittels Zusatz von Chloralhydrat mindestens gleichstellen.

Die so erhaltene Masse erfüllt alle die oben aufgestellten Bedingungen, vor allem aber die wichtigste: sie diffundiert nicht durch die Gefäßwand. Ein Ausfallen des Karmins kommt niemals vor, die Masse ist auf jeden Fall transparent. Die Konsistenz hat man natürlich ganz in der Hand, je länger man die Platten abtropfen läßt, um so konsistenter wird die Masse. Die Farbe, ein helles, durchsichtiges Kirschrot, ist, wenn man die obigen Vorsichtsmaßregeln beherzigt, auch vollkommen kräftig genug.

[Eingegangen am 6. April 1909.]

[Clinica dermatologica di Berna diretta dal Prof. Jadassohn.]

Sulla tecnica della dimostrazione delle cellule eosinofile.

Per

il **Dott. Leonardo Martinotti**

(Bologna).

L'importanza assunta in questi ultimi tempi dallo studio delle granulazioni eosinofile, sopratutto per merito di Ehrlich, ha fatto sì che molti autori si siano occupati della questione di vedere quale ufficio abbia nella fisiologia la presenza di tali elementi come costituenti normali di determinati organi, e nella patologia quale importanza assuma la comparsa loro in determinati processi morbosi e in organi nei quali normalmente non esistono.

Altri ancora, sopratutto l'Ehrlich stesso, hanno studiato il comportamento istochimico di tali granulazioni, e hanno determinato in tal modo che probabilmente nella loro costituzione entra un radicale a carattere basico che tende ad unirsi al radicale acido dei colori così detti acidi di anilina (granulazioni acidofile od ossifile, granulazioni *α* di Ehrlich).

Per altro, benchè sia ormai certo che esse si colorano coi colori acidi di anilina, in particolar modo colle „eosine", è anche indubbio che la loro dimostrazione, sopratutto nei tessuti, urta in certe difficoltà, tanto che probabilmente in molti processi nei quali esistono non appaiono colorate perchè necessitano di particolari procedimenti (Darier),[1] oppure perchè i procedimenti adottati sono sfavorevoli alla loro dimostrazione; così ad es. è opinione generale che la fissazione dei pezzi negli alcooli ostacoli o impedisca la loro dimostrazione (Darier[1], Kantér).

In base a ciò io mi sono occupato di cercare quali sono le condizioni che si mostrano favorevoli e quali sfavorevoli per la dimostrazione loro tanto nei preparati per striscio quanto nelle sezioni.

A tale proposito io dovrei prendere in considerazione non solo tutti i metodi posti innanzi da vari autori per la dimostrazione delle granulazioni eosinofile, ma anche quelli dati per la colorazione del sangue, nonchè tutte le innumerevoli modificazioni proposte al metodo preconizzato dal Romanowsky per la dimostrazione dei parassiti malarici nel sangue, metodo che, come è noto, si basa sullo speciale potere colorante di una miscela di bleu di metilene ed eosina. Siccome però un simile studio comparativo uscirebbe di molto dai limiti di questa nota e d'altra parte rappresenterebbe anche un lavoro poco utile giacchè moltissimi dei metodi proposti sono notoriamente lunghi e complicati e non hanno nessun particolare vantaggio, io mi sono limitato a raccogliere le indicazioni di grande numero di questi metodi nella bibliografia per coloro i quali volessero occuparsi più minutamente di ciascuno di essi, mentre nel corso del lavoro ho cercato di determinare quali sono i momenti che facilitano od ostacolano la dimostrazione delle granulazioni eosinofile dal punto di vista sia della fissazione, sia della qualità del colorante e sia del diverso procedimento adoprato.

* * *

Il materiale mi fu dato da sangue avente un certo qual grado di eosinofilia, da contenuto di bolle di pemfigo e di Dermite di Duhring che presentavano numerosi eosinofili e da midollo osseo rosso di bue e di coniglio. Quest'ultimo racchiude, come è noto, anche delle cosidette granulazioni pseudoeosinofile, che per altro sono di-

[1]) Darier, Pratique Dermatolog. — T. I, Path. génér. de la peau.

stinguibili per i loro caratteri particolari (piccolezza, reazioni coloranti, etc.). Il miglior materiale mi è stato fornito sopratutto dal midollo di bue che ho potuto ottenere sempre freschissimo, poco dopo sacrificato l'animale, e che possiede granulazioni eosinofile affatto analoghe a quelle dell'uomo; in fine ò eseguito preparati di controllo anche su midollo delle ossa dell'uomo.

La tecnica per la ricerca degli eosinofili nelle preparazioni fissate sia per striscio sia in sezioni è sempre stata identica per tutte le varie prove onde poter stabilire i dati di confronto.

Ecco i metodi usati costantemente:

a) Per gli strisci:

1⁰ Colorazione del preparato con soluzione acquosa all' 1 % di Eosin extra Höchst di Grübler per 5'.
2⁰ Lavaggio in acqua distillata.
3⁰ Asciugamento colla carta bibula.
4⁰ Colorazione con bleu di metilene acquoso neutro all' 1 % per 1' (non di più).
5⁰ Lavaggio in acqua distillata.
6⁰ Essiccamento colla carta bibula e poi a lieve calore.
7⁰ Xilolo, Balsamo, oppure esame coll' olio di cedro e l' immersione.

b) Per le sezioni:

1⁰ Colorazione delle Sezioni con glico-emallune di Mayer 3'—5'.
2⁰ Lavaggio in acqua comune.
3⁰ Colorazione per 12—24 ore con eosina diluitissima (2 goccie di soluzione acquosa all' 1 % in 50—100 cc di acqua comune).
4⁰ Alcool 90—95 — Alcool a 100⁰.
5⁰ Xilolo, Balsamo.

Nel dare il metodo all' eosina e bleu di metilene per strisci (*a*) ho insistito perchè la colorazione con quest' ultimo in soluzione acquosa neutra all' uno per cento non sorpassasse la durata di un minuto. La ragione è che, mentre se si tengono costanti questi tempi il risultato della colorazione riesce, dirò, normale in quanto che si hanno le emazie e le granulazioni eosinofile colorate dalla eosina e i nuclei e gli altri elementi basofili tinti dal bleu di metilene, accade che se si eccede nella colorazione con quest' ultimo si hanno risultati variabili che possono portare una totale colorazione azzurra degli

elementi, eccezion fatta delle granulazioni eosinofile che resistono più di tutti alla azione del colorante basico. Questo fatto è già da tempo noto (Jadassohn) e da taluni usufruito per una colorazione esclusiva degli eosinofili (Teichmüller).

I. Dimostrazione a fresco senza fissazione.

Se si prendono delle porzioni minime di midollo osseo di coniglio appena ucciso, si immergono in una soluzione fisiologica di cloruro sodico addizionata di scarsa quantità di eosina ($1\,^0/_{00}$ circa), si lasciano per dodici-ventiquattro ore, eventualmente dentro al termostato a 37°, dopo di che si dissocia il pezzo in glicerina e si fa immediato esame, le granulazioni appaiono debolmente colorate in rosa e visibili più per la loro particolare rifrangenza che per la maggior intensità di colorazione.

Lo stesso accade se si fanno sezioni per congelamento di pezzi freschissimi di midollo appena estratto dall' animale. Se invece si fa una fissazione di qualche ora in formolo al $10\,^0/_0$ e poi si seziona al congelatore, esse, per quanto non intensamente, appaiono però assai meglio colorate.

II. Fissazione.

A. Preparati per striscio.

Per queste ricerche ho provato circa una trentina di fissativi, compresi i varii alcooli.

Alcool Etilico. La fissazione negli alcooli presenta un fatto abbastanza curioso: contrariamente a quanto generalmente si crede, che cioè occorra l' alcool assoluto o quasi per fissar bene le granulazioni eosinofile, ho potuto constatare che si può avere una buona fissazione anche cogli alcooli di grado inferiore purchè venga prolungata la durata della fissazione stessa. Se si fissano dei preparati di sangue fatti per striscio, dopo averli lasciati disseccare all' aria, con alcool assoluto (reso tale mediante solfato di rame calcinato) si ha una buona fissazione già dopo circa 10′ (un tempo minore dà risultati incostanti); dopo 15′—20′ essa è anche migliore, invece se per la stessa durata di tempo si usano gli alcooli inferiori (99°—96°—90° etc.) le granulazioni o non vengono fissate o ma-

lissimo e appaiono allora diffusamente colorate, tutt'al più con una tinta un po' più intensa degli altri elementi acidofili, oppure come se fossero conglomerate. Prolungando il tempo di fissazione ad una mezz'ora si hanno già discrete preparazioni in quasi tutti gli alcooli, e infine quando si arrivi ad 1—3 e più ore si possono allora osservare delle eleganti dimostrazioni di eosinofili in tutti gli alcooli di vario grado cominciando da quello perfettamente assoluto (ottenuto nel modo sopradetto), e giungendo fino all'alcool a 70°—60°. Scendendo ancora nella scala degli alcooli si hanno naturalmente dei risultati sempre peggiori, perchè in essi all'azione fissativa va man mano sostituendosi l'azione macerante, il che accade approssimativamente coll'alcool a 50°—40°. E allora si vede questo fatto che, siccome le granulazioni eosinofile resistono più degli altri elementi all'azione di macerazione, esse, per quanto malamente, rimangono ancora colorate. Ciò accade ad esempio nell' alcool a 30° dove gli altri elementi sono per lo più alterati.

Ciò che avviene pel sangue si osserva anche per strisci di midollo osseo, di contenuto di bolle, di vescicole e via dicendo. Solo che allora la fissazione va mantenuta un po' più a lungo: per qualunque preparato quando essa dura per 3—6 ore dà bellissimi risultati.

Coll' aggiunta di tracce di acidi o di basi o non si ha fissazione od essa è pessima.

In conclusione credo di poter affermare che si ottiene una ottima fissazione cogli alcooli di diverso grado da 100° a 70°—60° quando essi siano neutri e quando la durata si prolunghi per alcune ore (1—3—6).

L'alcool Metilico dà elegantissime immagini e costituisce certo il migliore fissativo delle granulazioni eosinofile. La sua azione è rapida: uno striscio di sangue rimane fissato già dopo 15 secondi; per altro l'optimum si ha dopo 5′—10′.

La miscela *Alcoolico-Eterea* fissa pure ottimamente, sopratutto se la sua azione si prolunga per un'ora o due (Nikiforow).

Buoni risultati si hanno pure col *Calore*; per gli eosinofili non è per altro necessario raggiungere gli elevati gradi di temperatura consigliati da Ehrlich per le granulazioni neutrofile. Passando il portaoggetti su cui si è fatto lo striscio 10 al massimo 20 volte sulla fiamma si ha un'ottima fissazione.

Anche il *Cloroformio* (Josué) dà talora buoni risultati.

Buone immagini si hanno talora coi vapori di *Formolo* puro ovvero di *Acido Osmico* acquoso al 2%, sopratutto quando si

operi rapidamente facendoli agire sugli strisci appena fatti e ancora umidi.

Altri numerosi metodi di fissazione ò pure esperimentato ma tutti mi sono apparsi inferiori ai precedenti, i quali offrono sopratutto il vantaggio della sicurezza, della semplicità e della rapidità. Mi limito perciò ad enumerarli; essi sono dati dai liquidi di Flemming, Carnoy, Kleinenberg, Mann, Bouin, Orth, Dominici, dall'acido cromico, dall'acetone, dalla soluzione acquosa satura di sublimato, nonchè dai metodi complicati di Weidenreich, di Argutinsky, etc.

B. Fissazione dei pezzi.

Per questo studio mi sono attenuto esclusivamente al midollo osseo di coniglio come quelle che meglio si presta per simili ricerche. Esso veniva immerso freschissimo nei vari fissativi e, dopo eseguiti i passaggi necessari, veniva incluso in paraffina.

Le sezioni attaccate al portaoggetti venivano colorate seguendo il metodo sopraindicato.

Alcool Etilico. Coll' alcool a 100° (reso tale mediante solfato di rame calcinato), con quello a 99°—98° (alcool assoluto del commercio), con quello a 96°, ho fissato per 15 ore; con gli alcooli inferiori (90°—80°—70° etc. fino a 30°) per 24 ore. Anche qui, come per gli strisci ho avuto cogli alcooli buone fissazioni degli eosinofili. Non sarà certo una fissazione di predilezione quella che si ottiene, ma esse assumono una buona colorazione rosea coll' eosina, sono abbastanza ben delimitate e distinte le une dalle altre e risaltano sempre dagli altri elementi acidofili, sopratutto sulle emazie, per il colore più intenso che esse assumono. E nemmeno ho notato una grande differenza fra gli alcooli di diverso grado: per es. coll' alcool a 80° ho avuto fissazioni che non avevano nulla da invidiare a quelle ottenute coll' alcool a 100°. Io ho avuto discrete fissazioni fino all' alcool a 80°—70°; coll' alcool a 60° le granulazioni appaiono già un po' diffusamente colorate e cogli alcooli inferiori i risultati diventano gradatamente peggiori per il prevalere graduale dell' azione macerante su quella fissativa. Finalmente nell' alcool al terzo essendo le granulazioni eosinofile resistenti all'azione di macerazione più degli altri elementi esse possono ancora per quanto in modo non bello nè completo apparire colorate. La fissazione degli altri elementi va in generale di pari passo con quella

degli eosinofili. Gli alcooli devono sempre essere neutri; l'aggiunta di traccie di acidi o di alcali ostacola e impedisce talora del tutto la loro dimostrazione.

Colle miscele alcooliche (Liq. di CARNOY-v. GEHUCHTEN-SAUER, liq. di OHLMACHER, miscela alcoolico-eterea (ana)) ho avuto discrete fissazioni ma senza alcun particolare vantaggio.

Alcool Metilico. Questo fissativo, che a quanto mi consta non è stato finora molto usata per i pezzi[1], dà splendide immagini per gli eosinofili. Dopo 15 ore di soggiorno i pezzi sono passati direttamente in cloroformio e inclusi in paraffina. Le granulazioni sono nettissime e intensamente colorate. Anche i nuclei sono ottimamente conservati per quanto talora possano subire retrazioni riguardo alla loro forma.

Formolo. In soluzione acquosa (al 4 o al 10 $^0/_0$) dà belle immagini, in soluzione alcoolica invece (Formolo 10 — alcool etilico o metilico 90) dà risultati inferiori.

La miscela di Formolo e liquido di MULLER (1:9) preconizzata da ORTH dà risultati discreti.

Sublimato. In generale il sublimato è un ottimo fissativo delle granulazioni eosinofile, e se di fronte all' alcool metilico ha lo svantaggio di dare preparazioni meno eleganti, ha dall' altro lato il vantaggio di conferire una fissazione più regolare ai vari elementi del tessuto. Delle innumerevoli formule proposte vennero da me esperimentate quella di HEIDENHAIN, la miscela del MANN (Sublimato + ac. picrico + ac. tannico), la miscela sublimato-jodata di DOMINICI, la soluzione alcoolica neutra e quella acida, e infine una formula particolare, in uso nella Clinica dermatologica di Berna, la quale è così costituita

Sublimato	21 g
Alcool 95°—100°	150 cc
Soluz. fisiol. NaCl	279 „
Acido acetico	150 „

Essa dà risultati splendidi: si fissa per $^1/_2$—3 ore, secondo la grandezza dei pezzi, si lava in acqua corrente per 24 ore, si passa il pezzo in alcool 70° e poi in alcool 90° per 12 ore ciascuno con tracce di tintura di jodio, poi in alcool assoluto puro, in cloroformio, in paraffina.

[1]) Lo ha adoprato PAPPENHEIM assieme all'acetone e al formolo.

La formula di HEIDENHAIN dà pure buoni risultati ma meno di quella indicata; le altre miscele non sono raccomandabili.

Le miscele *picriche* (liq. di KLEINENBERG, liq. di BOUIN) e quelle *cromiche* (liq. di MÜLLER, di ZENKER, di PERÉNYI, di TELLYENIEZCKY, di BURCHARDT) mi hanno in genere dato risultati inferiori ai precedenti. Discrete preparazioni ho ottenuto talora col liquido di BOUIN (formolo-picrico), con lo ZENKER e col TELLYENIEZCKY, ma in maniera incostante.

Colle miscele *osmiche* (liq. di FLEMMING, di MARCHI, di MANN (Sublimato + ac. osmico + ac. acetico), di ALTMANN, di ALTMANN-SCHRIDDE e quelle *platiniche* (liq. di HERMANN, liq. del LINDSAY) ho ottenuto per lo più risultati poco buoni.

L'*acetone*, cattivo fissatore in genere, mi è apparso tale anche per le granulazioni eosinofile.

Chiuderò questa lista dei fissativi ricordando come col metodo della *cottura* (POSNER) io abbia ottenuto risultati assai soddisfacenti.

III. Qualità del colorante usato.

Le granulazioni eosinofile, com'è noto, sono dimostrabili coi coloranti così detti acidi di anilina (granulaz. α di EHRLICH), e tra questi sopratutto colle „eosine". Sotto questo nome vanno diversi corpi aventi una costituzione chimica analoga e posti in commercio con differenti nomi. Il ROSIN nell'Encicl. di tecnica micr. dà le seguenti varietà del gruppo „eosinico":

1° Eosina pr. detta, di cui i principali sinonimi sono: eosina giallastra, eosina solubile all'acqua, eosina A, eosina G, eosina extra etc.
2° Eosina solubile all'alcool o metileosina.
3° Safrosina o Eosinscharlach.
4° Jodeosina o eritrosina (Eos. bläulich).
5° Rosa bengala.
6° Floxina.

Avendo richiesto al Dott. GRÜBLER di Lipsia dei campioni di differenti varietà di eosina egli mi mandò le seguenti marche: Eosinwasser gelb, Eosin AG, Eosin BA, Eosin alcool., Methyleosin, Eosin bläulich, Eosin rein französ., Safrosin, Rosa Bengala, Erythrosin, (Magdalarot), le quali messe assieme ad alcune altre marche da me

già possedute (di cui una di Merck, un'altra di Schuchardt) mi diedero modo di far prove su circa una quindicina di varietà di eosine.

Debbo poi far notare che non ho potuto prendere a base dello studio la costituzione chimica delle varie eosine adoperate, perchè i fabbricanti pongono in commercio un numero enorme di colori con nomi differenti che, al dire degli autori, dovrebbero essere chimicamente identici; valga l'esempio della erytrosin e della eosin bläulich, le quali secondo la classificazione riportata dal Rosin dovrebbero essere identiche e che invece mostrarono non solo un diverso comportamento rispetto alla colorazione delle granulazioni eosinofile, ma anche all'aspetto esteriore delle soluzioni apparvero differenti.

Questa è la ragione per la quale io ho dovuto limitarmi a sperimentare le varie eosine avute dal Grübler, attenendomi alla denominazione da questi usata.

Di tutti i colori furono fatte soluzioni acquose all' 1 % (tranne dell' eosin spirituslöslich di cui venne fatta una soluzione in alcool a 95° all' 1 %) e della fluoresceina che è pochissimo solubile e di cui si fece una soluzione diluitissima in acqua. Oltre che colle eosine ho fatto prove anche con altri colori acidi più comunemente in uso; in generale però non ho avuto buoni risultati: il wasserblau e il lichtgrün per lo più non le colorano e danno una tinta diffusa, la fuxina acida mi ha dato risultati vari ed incostanti; il rosso congo le fa apparire talora discretamente colorate; l' orange G dà una tinta giallo-rossiccia; il goldorange e l' elianthin le colorano in giallo oro. In conclusione tutti questi colori non sono raccomandabili perchè costantemente mi sono apparsi inferiori sotto tutti gli aspetti anche alla peggiore delle qualità di eosina.

Una sostanza per altro merita una particolare menzione, ed è la coccinina, raccomandata sopratutto da Cornil e Babès nelle colorazioni di contrasto dei preparati di bacteri, la quale dà alle granulazioni eosinofile una tinta rossa lievemente aranciata molto netta ed elegante.

Tutte le prove vennero eseguite sempre secondo i metodi sopra indicati per strisci e per sezioni.

Dai risultati avuti ho potuto convincermi che tutte le sostanze appartenenti al gruppo delle eosine colorano più o meno bene le granulazioni eosinofile[1].

---

[1]) Debbo qui ricordare un fatto notevole: Il Grübler assieme ai

Di tutti i colori acidi e di tutte le eosine provate in rapporto al loro potere colorante delle granulazioni eosinofile, si possono fare i seguenti gruppi:

1⁰ Sostanze coloranti acide in genere che colorano le granulazioni ma in modo non bello e che quindi non sono raccomandabili, cioè: rosso Congo, Orange G, Goldorange, Helianthin; a questi deve aggiungersi la Fluoresceina, che dà una debole tinta giallo-verdastra disaggradevole.

2⁰ Eosine che colorano le granulazioni in modo non abbastanza netto e danno al fondo del preparato o un colore rosso sporco che nuoce al riconoscimento delle granulazioni stesse (Rosa Bengala, Phloxinrot, Magdalarot [?]) o una tinta rosso aranciata più o meno intensa (Eosina di Merck, Eos. di Schuchardt, Eos. spirituslös. di Grübler, Eos. AG di Grübler, Eos. BA di Grübler).

3⁰ Eosine che danno un' ottima colorazione delle granulazioni e anche una lieve tinta al fondo (Eosin extra Höchst di Grübler, Eosin rein französisch di Grübler, Eosinwasser gelb di Grübler).

4⁰ Eosine che infine non colorano quasi affatto il fondo e danno una bellissima tinta rosso porpora alle granulazioni e rosea aranciata alle emazie (Eosin bläulich, Methyleosin, Safrosin, Erythrosin). I preparati che si ottengono con tali sostanze sono splendidi, e le granulazioni appaiono intensamente colorate e nettissime. La migliore è forse l' eosin bläulich, mentre l' erythrosin è la meno consigliabile per la tinta meno elegante che essa conferisce. A questo gruppo va aggiunta la Coccinina che le colora in rosso aranciato in modo bellissimo e ben differenziato.

I risultati ottenuti portano quindi alla conclusione che le eosine

---

campioni di eosina mi mandò anche del Magdalarot, che come è noto è un colore analogo alle Safranine avente uno spiccato carattere basico e raccomandato sopratutto per la colorazione dei nuclei nelle sezioni di pezzi fissati in Flemming. Avendolo esperimentato tanto su sezioni come su preparati per istriscio mi ha dato una discreta colorazione degli eosinofili e soggiungerò di più che veramente eosinofile erano le granulazioni colorate e non pseudoeosinofile (del coniglio o della cavia) e tanto meno neutrofile o basofile; avendo richiesto al Grübler se per caso il colore inviatomi fosse una sostanza speciale, mi rispose che esso era il Magdalarot che comunemente si trova in commercio. Senza entrare in altre discussioni, mi limito per ora a segnalare questo fatto che mi pare sia abbastanza degno di nota.

appartenenti agli ultimi due gruppi in genere sono quelle più raccomandabili per la colorazione delle granulazioni eosinofili.

Fra di esse io ritengo che la eosin bläulich sia la migliore, in quanto che dà una colorazione veramente elettiva degli eosinofili, mentre se si desidera ottenere una discreta tinta di contrasto del fondo sono raccomandabili sopratutto la eosin rein französisch e la eos. extra Höchst tutte di Grübler.

IV. Solvente dell'eosina.

Il solvente dell'eosina ha una grande importanza, assai maggiore di quanto a prima vista potrebbe pensarsi. Già altri autori si sono fermati su questa questione facendo rilevare la diversità di risultati che si ottengono con i vari solventi (Kanthack).

Le soluzioni acquose sono ottime.

Io ho fatto prove tanto su sezioni che su preparati per istriscio, e i risultati sono stati sempre concordi.

Le soluzioni glicerinate colorano bene le granulazioni ma assai lentamente.

Le soluzioni acetoniche per lo più danno risultati negativi.

Le soluzioni idroglicerinate (30, 50 $^0/_0$ di glicerina) danno elegantissime preparazioni.

Le soluzioni alcooliche e idroalcooliche presentano un fatto meritevole di essere rilevato.

Se si fanno soluzioni di eosina alla stessa percentuale in alcool a diversi gradi (da 100^0 a 30^0), e se si lavano i preparati colorati con ciascuna di queste soluzioni coi differenti alcooli, si ottengono varie serie di preparazioni in ciascuna delle quali è facilmente rilevabile la circostanza che le granulazioni appaiono colorate all'incirca quando l'alcool raggiunge un determinato grado. Ad es., se si colora con soluzione di eosina fatta in alcool assoluto e si decolora con i diversi alcooli da 100^0 a 30^0 si nota che mentre con quelli superiori si hanno risultati negativi, quando si arriva a 80^0 si comincia ad ottenere per quanto in modo incerto una colorazione degli eosinofili; discendendo ancora essa si fa viepiù costante finchè circa nell'alcool a 40^0 avviene quasi sempre. Lo stesso fatto si osserva se si tien costante il grado di lavaggio dell'alcool (ad es. a 100^0) e si usano soluzioni di eosine con alcooli a differenti gradi di concentrazione. Naturalmente i risultati sono di una costanza approssima

tiva tanto più che sono sottoposti anche ad altri fattori, ad es., la durata della colorazione, quelle del lavaggio e via dicendo. Io ho cercato perciò di evitare tutte queste possibili cause di errore, come anche ho cercato di eliminare nel modo più assoluto l'uso di tracce minime di acqua, essiccando rapidamente con carta bibula le preparazioni nei diversi passaggi ed evitando qualsiasi possibile idratazione dell'alcool durante i vari tempi, e in tal modo ho potuto giungere a risultati sufficentemente costanti. In tutti i modi ciò porta a concludere che l'alcool concentrato impedisce una colorazione elettiva dell'eosina, e a supporre che in quei metodi (dati da parecchi autori) nei quali vengono usate soluzioni alcooliche di questo colore, la colorazione degli eosinofili avvenga per l'azione quasi istantanea dell'acqua di lavaggio che viene in contatto coll'eosina stessa.

Le soluzioni quindi che mi hanno dato i risultati migliori e anche i più sicuri, sono quelle acquose e quelle idroglicerinate; così, ad es., una soluzione di eosina all' 1 $^0/_0$ che sia fatta con il 70 $^0/_0$ di acqua e il 30 $^0/_0$ di glicerina, è raccomandabilissima e offre per di più il vantaggio di conservarsi meglio della semplice soluzione acquosa.

V. Tecnica della colorazione.

I metodi che ho riferito sopra, sono di uso generale e dopo una fissazione idonea possono considerarsi tra i più sicuri mezzi per la dimostrazione delle granulazioni eosinofile; per altro nell'immensa falange di metodi coi quali può ottenersi la colorazione delle cellule eosinofile i vari autori hanno seguito norme differenti che si possono schematicamente così riassumere:

I. Per gli strisci. Si può fare una fissazione e colorazione separata e una fissazione e colorazione contemporanea.

1^0 La fissazione e la colorazione separata rappresenta il metodo più antico ed è in massima quello da me seguito: in esso dopo avvenuta la fissazione si può far precedere la colorazione col bleu di metilene a quella coll'eosina, si possono usare svariati colori basici di anilina (verde di metile, Tionina, Bleu di toluidina, Brillantkresylblau etc., etc.) o le varie formule di ematossilina.

Si può usufruire anche delle cosidette triacide di cui è tipo quella di Ehrlich, oppure anche delle miscele acidofile (Ehrlich).

In generale la tecnica da me indicata mi ha dato sempre ottimi risultati.

2º Nella fissazione e colorazione contemporanea si adoprano miscele sciolte in un liquido che è anche fissativo, che per lo più è alcool metilico. Per altro in questi casi, è logico supporre che l'azione del fissativo preceda, per quanto di poco, quella del colorante. Difatti nella massima parte dei casi si tratta di soluzioni di bleu di metilene ed eosina fatte assieme in alcool metilico; ora se si fa la colorazione con una di tali miscele evitando qualsiasi traccia di acqua, la colorazione degli elementi acidofili puri (ed anche basofili) non avviene od è appena percepibile anche se la preparazione rimane a lungo ($^1/_2$—1 ora) a contatto col colorante (Assmann, Inaug. Diss.). Se invece si aggiunge dopo un certo tempo dell'acqua e si lava in acqua (v. la tecnica indicata più avanti) la colorazione si effettua benissimo in 3 minuti. Questo fatto (che probabilmente è dovuto oltrecchè all'essere l'alcool metilico un cattivo solvente dell'eosina, anche ad altri fattori che qui sarebbe lungo esporre [si vegga il lavoro dell'Assmann]), dimostra che l'azione dell'alcool metilico si svolge indipendentemente da quella del colorante.

In relazione colle miscele fissativo-coloranti dovreì prendere in considerazione le innumerevoli formule di bleu di metilene ed eosina proposte dagli autori, le quali in gran parte non sono che modificazioni del metodo dato da Romanowsky per la dimostrazione dei parassiti della malaria.

Io però ho creduto bene di attenermi solo a quelle che sono già note per i buoni risultati che esse danno e che sopratutto hanno il merito di associare alla sicurezza del metodo e alla bellezza delle preparazioni il non lieve vantaggio della semplicità e della rapidità di esecuzione.

Io ho usato e quindi confrontato tra loro i metodi di Giemsa, Marino, Leishman, May-Grünwald, Jenner, Goldhorn, Wright. Tutti questi sono ottimi: quello che forse per la colorazione delle eosinofile è meno raccomandabile è il Giemsa, anche per la durata maggiore necessaria per avere una buona colorazione (circa 15′).

I metodi di Marino, Leishman, Goldhorn, Wright danno delle immagini elegantissime e assai delicate; quelli di May-Grünwald e di Jenner danno tinte più energiche, ma sempre bellissime. Questi due ultimi, sopratutto il Jenner, sono forse più adatti per lo studio delle granulazioni eosinofile e del sangue in genere.

Di questi diversi colori si fanno soluzioni approssimativamente sature in alcool metilico assoluto puro, privo di acetone, e precisa-

mente al 0·30 % della polvere di Wright e di quelle di May-Grünwald e di Jenner (poste in vendita da Grübler), al 0·15 % di quella di Leishman, al 0·20 % di quella di Marino e all' 1 % circa di quella del Goldhorn. La tecnica è identica per tutti metodi:

1° Sulla preparazione non fissata si versano, in sufficiente quantità per coprire lo striscio e impedire l'essicamento da evaporazione, alcune gocce di soluz. colorante e si lasciano per 1'.

2° Senza gettare, si lascia cadere a gocce, evitando possibilmente ogni dispersione fuori del portaoggetti, acqua distillata in quantità approssimativamente doppia del colorante e si lascia agire per un tempo doppio (2').

3° Si allontana la miscela e si lava in acqua distillata: lo striscio deve avere per trasparenza una tinta rosea: se invece ha un aspetto verdastro o bluastro, si prolunga il lavaggio sino a che ha assunto il colore voluto.

4° Si essicca colla carta bibula e poi a lieve calore.

5° Si esamina coll' olio di cedro oppure si chiude in balsamo.

Così usati tutti questi metodi danno risultati splendidi. Può talora accadere, ed io ho notato che questo avviene sopratutto colla soluzione di May-Grünwald che, malgrado che si continui a lavare, lo striscio rimane persistentemente verdastro, oppure si scolora completamente. A tale inconveniente si ovvia facilmente aggiungendo una lieve traccia di eosina all' acqua distillata che viene addizionata (nel passaggio 2) al colorante; approssimativamente si aggiunge una goccia di soluzione acquosa di eosina all' 1 % a 10 cc di acqua (ciò che porta circa ad avere una soluzione all' $^1/_{20000}$). Questa modalità di tecnica esiste nel metodo originario di Marino ed è necessaria per la colorazione dei protozoari; è inutile invece per la colorazione semplice del sangue, tranne quando si verifichi il caso sopradetto.

Con tale tecnica, ripeto, ho avuto sempre ottimi risultati; quando le preparazioni si colorano difficilmente si potranno allungare i tempi: fino a 2'—3' (non di più!) il tempo 1° e a 5'—15' il tempo 2°.

Se le preparazioni sono vecchie, si fissano prima in alcool assoluto per $^1/_2$ ora, poi si colorano diluendo la soluzione colorante con due volumi di acqua distillata e si fa agire per 5'—15', quindi si procede come nell' altro metodo (Naegeli).

Quando si fanno ricerche su sedimenti urinari, contenuto di bolle, citodiagnosi, ecc., accade abbastanza frequentemente che lo striscio si stacca dal vetro, indipendentemente da qualsiasi causa

riguardante la pulizia del vetro stesso, il grado insufficente di essiccamento, ecc. ecc. All'inconveniente si può ovviare usando la tecnica indicata da Wright che è la seguente:

1º Si copre la preparazione con:
Soluz. di Wright (o di Jenner o di M. Grünwald) p. 3.
Alcool metilico p. 1.
Si lascia per 2″—40″.
2º Si versano 8—10 goccie di acqua distillata e si lascia per 1′—2′.
3º Si lava dolcemente facendo cadere l'acqua a goccie sul vetrino e lasciandovela per pochi secondi.
Si ripete così l'operazione in 4—5 tempi.
4º Si essicca agitando il vetrino sul becco Bunsen, cercando per altro di non raggiungere un grado di temperatura tale da dare una sensazione molesta di calore alle dita.
5º Si esamina col balsamo o all'olio di cedro.

Tutti i procedimenti indicati mi hanno dato costantemente ottimi risultati.

Altre miscele come quelle di Laurent, quella di Pröscher (al bleu di toluidina ed eosina) mi sono apparse inferiori alle precedenti.

II. Per riguardo allo tecnica delle dimostrazioni delle cellule eosinofile su sezioni, come è prevedibile, non si può usare una fissazione contemporanea alla colorazione, giacchè in generale quando i pezzi si includono vengono prima fissati. Non rimane quindi a considerare che il lato della colorazione, la quale presa solo nel riguardo delle cellule eosinofile, può effettuarsi in una delle seguenti maniere.

1º Colorazione lenta progressiva.
2º Colorazione rapida regressiva.
3º Colorazione colle miscele di bleu di metilene ed eosina.

1º La colorazione lenta progressiva dà risultati splendidi: si effettua secondo la tecnica che abbiamo dato in principio e costituisce uno dei metodi più sicuri per la dimostrazione degli elementi eosinofili nei tessuti, quando la loro fissazione sia idonea a tale scopo.

2º La colorazione rapida regressiva si basa sul fatto che se si colora una sezione in eccesso con una soluzione forte acquosa di eosina, e la si tratta in seguito con una soluzione diluitissima alcalina, il tessuto si decolora in parte o in tutto secondo la durata

e la forza dell'azione dell'alcalino, mentre le granulazioni eosinofile che resistono più degli altri elementi, rimangono colorate. Tale metodo preconizzato dal prof. Jadassohn è ottimo; naturalmente bisogna usarlo con cautela e controllando eventualmente sotto al microscopio onde evitare di incorrere nel pericolo di decolorare anche gli eosinofili. Sullo stesso principio si fonda il metodo del Mann non che quelli del Noesske, del Wright (Mallory e Wright p. 309), del Berliner, i quali usano soluzioni di colori basici alcalinizzati e ottengono così contemporaneamente l'effetto di decolorare il tessuto dall'eosina e di avere una colorazione nucleare di contrasto.

3° Le miscele di bleu di metilene ed eosina che danno sì buoni risultati con i preparati per istriscio non sono altrettanto raccomandabili per le sezioni. Molti autori hanno tentato modificazioni e miglioramenti (Sternberg, Assmann, Zieler, Schridde, Wright, ecc.) ma i metodi da loro indicati danno sempre risultati incerti e inferiori a quelli semplici colle soluzioni acquose di eosina. Dal canto mio soggiungerò come con tali modificazioni io abbia ottenuto risultati non mai superiori a quelli che si hanno usando la semplice tecnica indicata per gli strisci; vale a dire nel modo seguente:

1° Colorazione delle sezioni per 1′ colla soluzione di M. Grünwald.
2° Aggiungere un volume doppio di acqua distillata, lasciando agire per 2′.
3° Brevissimo lavaggio in acqua distillata.
4° Essiccamento accurato alla carta bibula. Le sezioni sono azzurre.
5° Alcool assoluto neutro sino a lieve tinta rosea (circa 30″).
6° Xilolo, Balsamo.

Per altro anche così adoperato il metodo riesce, per rispetto alle granulazioni eosinofile, sempre inferiore a quelli colle soluzioni acquose di eosina; esso rimane invece utilissimo quando si vogliano dimostrare i neutrofili, per il quale scopo veramente le miscele neutre di bleu metilene ed eosina sono state sopratutto indicate.

Conclusioni.

I risultati delle ricerche esposte in questa nota possono così riassumersi. La dimostrazione delle cellule eosinofile tanto nei preparati per istriscio che in quelli per sezioni è in diretto rapporto

(oltrecchè colla freschezza del tessuto) colla fissazione, col colore adoprato, colla natura del solvente usato per quest' ultimo, col procedimento seguito.

Per i preparati per istriscio il miglior fissativo è l'alcool metilico assoluto, puro e neutro (per 5′—10′); sono ottimi anche l'alcool-etere ana (per $^1/_2$—2 ore) e il calore, che però non è necessario sia molto elevato: per lo più basta il passaggio del vetrino 10—20 volte sulla fiamma del becco Bunsen.

Per la fissazione dei pezzi i liquidi più raccomandabili sono il sublimato (specialmente nella formula indicata), il formolo, e sopratutto l'alcool metilico, che rimane sempre il fissativo di predilezione.

Anche l'alcool etilico nei suoi vari gradi (100°—70°—60°) può favorire la dimostrazione delle cellule eosinofile tanto nei preparati per istriscio quanto per sezioni.

I liquidi acidi nuocciono per lo più alla dimostrazione delle granulazioni eosinofile. Fa eccezione la formula di sublimato raccomandata.

I migliori coloranti delle granulazioni acidofile od ossifile sono sopratutto le sostanze appartenenti al gruppo delle „eosine", e fra queste quella che dà una colorazione veramente elettiva è l'eosin bläulich (di Grübler); l'eosin rein französisch e l'eosin extra Höchst (pure di Grübler) sono invece raccomandabili quando si voglia ottenere anche una colorazione di contrasto del fondo.

Oltre a queste sono ottime la Methyleosin, la Safrosin, ecc. ecc. nonchè la Coccinina.

Il miglior solvente dell' eosina è l'acqua distillata sopratutto se addizionata del 30 % di glicerina; invece le soluzioni acetoniche e le soluzioni fatte negli alcooli concentrati ostacolano la dimostrazione degli eosinofili.

Per la dimostrazione degli eosinofili su strisci il metodo semplice alla eosina e bleu di metilene e quelli di Jenner e di May-Grünwald sono i più raccomandabili.

Per le sezioni i migliori metodi sono quello progressivo lento con soluzione diluitissima di eosina, e quello regressivo rapido colla decolorazione mediante soluzioni alcaline deboli.

I metodi al bleu di metilene eosina che danno risultati ottimi per gli strisci non sono molto indicati per la ricerca degli eosinofili su sezioni, mentre rimangono sempre raccomandabilissimi per la ricerca

dei neutrofili. Di tutte le loro modificazioni proposte per le sezioni quella che mi ha dato risultati migliori è la tecnica semplice analoga a quella usata per gli strisci.

Letteratura.

Argutinsky, Malariastudien (Arch. f. mikr. Anat. u. Entwickl. Gesch. Bd. LIX, 1902, p. 315 — ibidem Bd. LXI, p. 331). — Arnold, Zur Technik der Blutuntersuchung (Zentralbl. f. allg. Path. Bd. VII). — Idem, Zur Morphologie und Biologie der Zellen des Knochenmarks (Virch. Arch. Bd. 140—144). — Aronson u. Philip, Über die Anfertigung von Sputumschnitten und die Darstellung der eosinophilen Zellen in denselben (Deutsch. Med. Woch. 1892, p. 48; Baumgartens Jahresb. Bd. VIII, 1892, p. 604). — Assmann, G., Über eine neue Methode der Blut- und Gewebsfärbung mit eosinsaurem Methylenblau (Münch. mediz. Woch. 1906, No. 28, S. 1350; Ref. in Zeit. f. wiss. Mikr. Bd. XXIV, 1907, p. 174). — Idem, Das eosinsaure Methylenblau und Methylenazur in seiner Bedeutung für die Blutfärbung. Inaug. Diss. Leipzig 1908.

Balbiani, Ann. Micr;gr. Paris, t. VII, 1895, p. 245. — Barrat, The staining act; an investigation into the nature of methylene-blue-eosin staining (Bioch. Journ. vol. I, 1906; Ref. in Bioch. Zentralbl. Bd. V, 1906, p. 764). — Baumgarten, The Methylene-blue-eosine Stains (American Med. vol. VII, no. 1, p. 14). — Becker, Über den Zusatz von Essigsäure zur Eosin-Methylenblaulösung bei Färbung von Blutpräparaten (Deutsch. Mediz. Woch. Bd. XXVII, 1901, p. 78; Ref. in Zeit. f. wiss. Mikr. Bd. XVIII, 1901, p. 199). — Berestneff, Eine neue Modifikation der Hämosporidienfärbung nach der Romanowsky-Rugeschen Methode (Zentr. f. Bakteriol. Abt. I; Ref. Bd. 34, p. 296; Baumgartens Jahresb. Bd. XVI, 1900, p. 474). — Bergonzini, Über das Vorkommen von granulierten basophilen und acidophilen Zellen (Anat. Anz. Bd. VI). — Idem, Contributo allo studio delle cellule eosinofile (Rassegna di scienze mediche t. VII, no. 3, 1892). — Berliner, Beiträge zur Histologie und Entwicklungsgeschichte des Kleinhirns. Inaug. Diss. Breslau 1904 (Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXVI, 1905, p. 220—269; Ref. in Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXII, 1905, p. 566). — Bettmann, Über das Verhalten der eosinophilen Zellen in Hautblasen (Münch. Med. Woch. 1901). — Bezançon et Labbé, Traité d'Hématologie, Paris 1904. — Billet, Modification à la méthode de coloration de Romanowsky-Giemsa (Compt. Rend. Soc. Biolog. t. 61, 1907, p. 753, Paris; Ref. in Zentralbl. f. Bakter. I. Abt.; Ref. Bd. 41, 1908, p. 425. — Biondi, Neue Methode der mikroskopischen Untersuchung des Blutes (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. XXXI, 1887, p. 51; Ref. in Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. V, 1888, p. 82). — Bogdanoff, Über das Vorkommen und die Bedeutung der eosinophilen Granulationen (Biolog. Zentralbl. Bd. XVIII, 1898, p. 26; Ref. in Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XIV, 1897, p. 470). — Idem, Inaugural-Dissert. Mosca (Ref. in Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XVIII, 1901, p. 332). — Bremer, Über das Paranuclearkörperchen der gekernten Ery-

throcyten, nebst Bemerkungen über den Bau der Erythrocyten im allgemeinen (Arch. f. mikrosk. Anatomie Bd. XLV, 1895, p. 433). — Bruckner, Une modification pratique du procédé de Romanowsky pour le sang et le tréponème (Compl. Rend. Soc. Biol. t. LXIV, 1908, p. 968; Ref. in Bull. de l'Inst. Pasteur t. VI, 1908, p. 722).

Calberla, Morph. Jahrb. Bd. III, p. 625. — Canon, Über eosinophile Zellen und Mastzellen im Blut Gesunder und Kranker (Deutsche med. Woch. 1892, No. 10). — Chaytor-White, The Romanowsky Stain for Demonstrating the tertian Malarial Parasite (Indian Med. Gaz. vol. 36, no. 2, p. 52). — Chenzinsky, Zur Lehre über den Mikroorganismus des Malariafiebers (Zentralbl. f. Bakter. Bd. III, 1888, No. 15, p. 457). — Chiarugi, Boll. della Soc. delle Scienze Mediche. Siena 1886, f. VIII—IX; Ref. in Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. IV, 1887, p. 490). — Ciaccio, C., Colorazione dei tessuti con una miscela colorante di eosina, orange, bleu di toluidina (Monit. Zool. italiano, Anno XVIII, no. 11, p. 277, 278). — Craig, A new method of staining the malarial parasites with a description of the staining reactions (Repr. from. the New York Med. Journ. Sept. 13; Ref. in Baumgartens Jahresber. Bd. XVIII, 1902, S. 760).

Davidsohn, Über Kresylviolettfärbung (Zentralbl. f. allgem. Path. u. path. Anat. Bd. XV, 1904, p. 991). — Drago, S., Contributo alla preparazione dei globuli bianchi del sangue (Gazz. degli Ospedali e delle Cliniche no. 57, 1900). — Drechsfeld, Med. Zentralbl. 1876, No. 40; Journ Anat. and Physiol. vol. XI, p. 181. — Duhram, Journ. of Pathol. 1897, p. 340.

Ehrlich, Farbenanalytische Untersuchungen zur Histologie und Klinik des Blutes, Berlin 1891. — Ehrlich u. Lazarus, Die Anämie Abt. I, aus Handb. f. spez. Pathol. u. Therapie v. H. Nothnagel, Wien, Hölder, 1898. — Einhorn, Über das Verhalten der Lymphocyten zu den weißen Blutkörperchen, Inaugur. Diss., Berlin 1884. — Engel, Zur Färbung von Blut- und Eiterpräparaten mit Eosinmethylenblau (Deutsch. Mediz. Woch. No. 14, p. 223, 1901; Baumg. Jahresb. 1901, Bd. XVII, p. 940).

Feinberg, Über den Bau der Bakterien (Zentralbl. f. Bakter. Abt. I, Orig. Bd. XXVII, 1900, p. 417). — Idem, Deutsch. mediz. Woch. 1900, p. 216: Ref. in Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XVII, 1901, p. 242. — Idem, Deutsch. mediz. Woch. 1900, p. 378; Ref. in Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XVII, 1901, p. 246. — Idem, Über die Anwendung der Romanowskischen Färbemethode in den Gewebsschnitten speziell bei den Krebsgeschwülsten (Deutsch. med. Woch. No. 45, p. 1048; Berliner Klin. Woch. No. 45; Ref. in Baumgartens Jahresb. 1902, Bd. XVIII, p. 1135). — Fischer, Eosin als Tinktionsmittel für mikroskopische Präparate (Arch. f. mikrosk. Anatom. Bd. XII, p. 349). — Fuchs, Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. LXIII, 1899; p. 427; Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XVI, p. 448.

Gage, Proceed, of the Americ. Soc. of Microsc. vol. XIV, 1892; Ref. in Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. X, 1893, p. 79. — Giemsa, Färbemethoden für Malariaparasiten (Zentralbl. f. Bakter. Orig. Bd. XXXI, 1902, p. 429). — Idem, Bd. XXXII, 1902, p. 307. — Idem, Bd. XXXVII, 1904, p. 308; Ref. in Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XIX, p. 199 u. Bd. XXII, p. 449. — Gillot, Coloration des hématozoaires (Compt. Rend. Soc. de Biol. t. 55, p. 244). — Goldhorn, New York Path. Soc. New Sér. vol. I, no. 1,

p. 7; Ref. in Bezançon e Labbé, loc cit., p. 89; Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XVIII, 1901, p. 221. — Idem, Proceed. of the New. Y. path. Soc. t. V, 1905, f. 4, 8. — Idem, Journ. of exper. Med. t. VIII, 1906, p. 451; Bull. Pasteur 1906, p. 434 e 603. — Grassi u. Feletti, Zeit. f. wiss. Mikrosk. (Ref.) Bd. IX. — Gros, Compt. Rund. Soc. de Biol., Paris 1904, p. 484. — Grouven, Über die eosinophilen Leukocyten der Schleimhaut des Respirationstraktus, Inaug. Diss., Bonn 1895 (Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XII, 1895, p. 379). — Guieysse, Coloration élective des plateaux en brosse par le vert lumière dans la triple coloration de Prénant (Compt. R. Soc. Biol. Paris t. LXII, 1907, p. 1212; Ref. in Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXIV, 1907, p. 433). — Gulland, A rapid method of fixing and staining blood films (Brit. Journ. 1897, p. 652; Ref. in Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XIV, 1897, p. 62). — Idem, Journ. of. Physiol. vol. XIX, 1896, p. 388.

Walker-Hall, J. u. Herxheimer, G., Methods of morbid histology a. clinical pathology. Edinburg and London 1905. — Hanna, The Lancet, April 1901. — Harris, Method of preparing permanent specimens of stained human blood (Journ. R. Microsc. Soc. Ser. II, vol. V, 1885; Ref. in Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. III, 1886, p. 94). — Idem, Amoebic dysentery (Americ. Journ. Med. Sc. 1898, p. 47; Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XVI. 1899, p. 436). — Harris, A modification of the Romanowsky stain (Centr. f. Bakter. Abt. I, Bd. XXXIV, 1903, p. 188). — Hastings, T. W., A methodified Nocht's stain (Bull. of the Johns Hopkin's Hospital, April 1904). — Idem, A method for preparing a permanent Nocht's stain (Nocht-Jenner stain) (Journ. of exper. med. 1905, vol. VII, no. 3, vergl. Zentralbl. f. allg. Pathol. Bd. XVII, S. 77; Ref. in Zeit. f. wiss. Mikrosk. 1906, Bd. XXIII, S. 205). — Hauswald, Deutsche mediz. Woch. 1901, No. 46, Folia hämat. Bd. III, 1906, p. 344. — Hayem, Du sang et de ses altérations anatomiques, Paris, Masson, 1889 (Ampio refer. in Zeit f. wiss. Mikr. Bd. VI, 1889, p. 330). — Hesse, F., Zur Kenntnis der Granula der Zellen des Knochenmarks bzw. der Leukocyten (Virch. Arch. Bd. CLXVII, 1902, p. 232). — Hirschfeld, Virch. Arch. Bd. CLIII, 1898, p. 335 u. Bd. CLXVI, 1901, p. 195; Ref. in Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XV, 1898, p. 478 und Bd. XIX, 1902, p. 95.

Jadassohn, Demonstration von Unnas Plasmazellen und von Eosinophilenzellen in Lupus und in anderen Geweben (Verh. der Deutsch. dermat. Gesellsch., III. Kongreß in Leipzig, 1891; Arch. f. Derm. u. Syph. 1892, S. 58). — Jadassohn, In Baumgartens Jahresber. über die Fortschritte von den pathogenen Mikroorganismen Bd. XI, 1895, p. 124, Nota 2. — Jagič, Zur Färbung von Exsudatzellen (Wiener klin. Woch. Jahrg. XVIII, 1905, S. 1026). — Idem, Über Azetonfixierung von Blutpräparaten (Wiener klin. Woch. Jahrg. XIX, 1906, S. 204). — Janowsky, Über den praktischen Wert der neueren Methoden der Blutuntersuchung (Zentralbl. f. allg. Pathol. Bd. XII, 1901, p. 828). — Jansco u. Rosenberger, Arch. f. klin. Med. Bd. XXI, p. 449. — Japha, Zur Eosinmethylenblaufärbung des Blutes (Deutsche med. Woch. Bd. XXVII, 1901, p. 224; Zeit. f. wiss. Mikr. XVIII, 1901, p. 201; Baumgartens Jahresb. Bd. XVIII, p. 1901, p. 937). — Jenner, The Lancet 1899, vol. I, p. 370, no. 3937. — Johne, Zur mikroskopischen Technik (Deutsche Zeit. f. Tiermed. u. vergl. Path.

Bd. II. p. 401). — Joseph, M., Dermato-histologische Technik 3. Aufl. III, Berlin 1905. L. Marcus. — Josué, Compt. Rend Soc. Biol. Paris 1901, p. 642.

Kahlden, Technik der histologischen Untersuchung pathologisch-anatomischer Präparate, Jena, Fischer, 1904. — Kanter, Über das Vorkommen von eosinophilen Zellen im malignen Lymphom. Inaug. Dissert. Breslau, 1893. — Kanthack u. Hardy, The morphology and distribution of the wandering of mamalia (The Journ. of Physiology vol. XIV, 1894 —1895, p. 81). — Koreck, Zur Farbetechnik der Malariaparasiten (Deutsch. mediz. Woch. Jahrg. XXIX, p. 300).

Laporte, Über eine neue Blutfärbung (Fortschritte der Mediz. Bd. XXI, 1903). — Laurent, Über eine neue Färbemethode mit neutraler Eosinmetylenblaumischung anwendbar auch auf andere neutrale Farbgemische (Zentralbl. f. allg. Path. u. pathol. Anat. Bd. XI, 1900, p. 86). — Laveran, Procédés de Coloration des Protozoaires parasites du sang (Compt. Rend. Soc. de Biol. t. CV, p. 304; ibid. 1899, p. 150; ibid. 1900, p. 549). — Lawdowsky, Archiv f. mikr. Anatomie, Bd. XIII, p. 359. — Lee u. Mayer, Grundzüge der mikroskopischen Technik für Zoologen und Anatomen, 2. Aufl. Berlin, Friedlaender & Sohn, 1901. — Lefas, La technique histo-bactériologique moderne, Paris Baillière 1906. — Leishman, A rapid and simple method of producing Romanowsky staining in malarial and other blood films (Brit. med. Journ. 1901, Sept. 21). — Idem, Deep Chromatin staining in malaria (Brit. med. Journ. vol. I, p. 668). — Idem, On deep Chromatin Staining of malaria (Lancet Year 82, vol. I, p. 801). — Idem, Journ. of Hyg. 1904. — Idem, Journ. Roy. Ann. Med. Corps. 1904. — Idem, A method of producing chromating staining in sections (Journ. of Hyg. 1904, vol. IV, p. 434). — Idem, Notes on Romanowsky staining (Journ. of the Roy. Chem. med. Corps vol. II, p. 669, V.; s. auch Bulletin de l'Inst. Pasteur t. I, 1903, p. 104). — Lentz, Ein Beitrag zur Färbung der Negrischen Körperchen (Zentralbl. f. Bakter. Abt. I, Orig. Bd. XLIV, 1907, p. 374; Ref. in Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXIV, 1907, p. 435). — Lenzmann, Über eine vereinfachte Methode der Färbung von Bluttrockenpräparaten (Rheinisch-Westfälische Ges. f. innere Mediz. u. Nervenheilk, IV. Vers. 6. Nov. 1904, Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXII, 1905, p. 431). — Leuchs, J., Über Zellen des menschlichen Eiters und einiger seröser Exsudate, Studien über Färbungen mit dem May-Grünwaldschen Farbstoff. Diss. München 1904. — Levaditi, Le Leucocyte et ses Granulations, Coll. Scientia, Paris, C. Naud 1902. — List, Zur Färbetechnik (Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. II, 1885, p. 150). — Löffler, Deutsche med. Woch. 1907, p. 169.

Mac Neal, Ward J., Methylene violet and methylene azur (Journ. of infect. diss. 1906, vol. III, p. 412). — Idem, A Note on methylene violet as one of the nuclear dyes in the Romanowsky stain (Americ. Journ. Anat. 1906, vol. V; Ref. in Zeit. f. wiss. Mikrosk. 1906, Bd. XXIII, p. 455). — Malachowsky, Zur Morphologie des Plasmodium malariae (Zentralbl. f. klin. Mediz. 1891, no. 31; Baumgartens Jahresb. Jahrg. VII, 1891, p. 384). — Mallory a. Wright, Pathological Technique, Philadelphia a. London, Saunders. 1908. — Mamurowsky, Zur Technik der isolierten Färbung

der Malariaparasiten (Medic. Obosrenie Bd. XXXVIII; Baumgartens Jahresb. 1894, Bd. VIII, p. 414). — Mann, G., Physiological Histology, Methods and Theory, Oxford 1902. — Idem, Zeit. f. wiss. Mikr. Bd. XI, 1894, p. 489, 490. — Mannaberg, Beiträge zur Morphologie und Biologie des Plasmodium malariae tertianae (Zentralbl. f. klin. Mediz. 1891, No. 27; Baumgartens Jahresb. Jahrg. VII, 1891, p. 386; Ergebnisse der allg. Path. Bd. V, 1898, p. 591). — Marino, Annales de l'Inst. Pasteur, t. XVIII, 1904, p. 761. — Idem, Ibidem t. XVII, 1903, p. 357. — Idem, Ibidem t. XIX, 1905, p. 816. — Maurer, Zentralbl. f. Bakteriolog. Bd. XXVIII, 1900, p. 114; Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XVIII, 1901, p. 47. — Idem, Bd. XXXII, p. 695. — May, Rich., Eine neue Methode der Romanowskyfärbung (Münch. med. Woch. 1906, p. 358; Ref. in Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXIV, 1907, p. 158). — May u. Grünwald, Zentralbl. f. inn. Med. 1902, No. 11; Arch. f. klin. Med. Bd. LXXIX, 1904. — Mezincescu, Contribution à la morphologie comparée des leucocytes (Arch. de Méd. expérim. et d'Anat. pathol. t. XIV, 1902, p. 562; Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XX, 1903, p. 327). — Michaelis, Über die Methylenblaueosinfärbung (Deutsche med. Woch. Bd. XVII, 1901, p. 127; Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XVIII, 1901, p. 1907). — Idem, Das Methylenblau und seine Zersetzungsprodukte (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. I, Bd. XXIX, 1901, p. 763). — Idem, Ibid. Bd. XXX, 1901, p. 626; Baumgartens Jahresb. Bd. XVII, 1901, p. 334. — Idem, Einführung in die Farbstoffchemie, Berlin 1902. — Moore, Double staining of nucleated blood corpuscles (Micr. Bd. II, 1882, p. 73). — Morel et Soulié, Manuel de Technique microscopique, Paris 1899. — Mosse, Bemerkungen über Herstellung und Deutung von Knochenmarksschnittpräparaten (Zentralbl. f. allgem. Pathol. Bd. XVI, 1905, p. 855). — Mullern, W. Türks Vorlesungen über klinische Hämatologie, Wien u. Leipzig 1904, Teil I, p. 207.

Naegeli, Blutkrankheiten und Blutdiagnostik, Lehrb. der morph. Hämatologie; Leipzig, Veit & Co., 1908. — Neumann, A., Zum Wesen der Romanowsky-Nocht-Färbung (relative Metachromasie) (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig., Bd. XLIII, No. 7, p. 746; Ref. in Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXIV, 1907, p. 160). — Niegolewski, Die Ehrlichsche Granulation der weißen Blutkörperchen bei einigen Tierspezies, Inaug. Diss. München, 1894. — Nikiforow, Mikroskopisch-technische Notizen (Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. V, 1888, p. 340). — Nocht, Zur Färbung der Malariaparasiten (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Bd. XXIV, 1898, p. 839). — Idem, Ibid. Bd. XXV, 1899, p. 17 u. p. 764; Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XV, 1898, p. 458, Bd. XVI, 1899, p. 225. — Noeßke, Eosinophile Zellen und Knochenmark insbesondere bei chirurgischen Infektionskrankheiten und Geschwülsten (Deutsche Zeit. f. Chir. Bd. LV, 1900, p. 211; Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XVII, 1900, p. 483).

Pelagatti, M., Über einige neue Färbungsmethoden mit Anwendung der Zenkerschen Fixierungsflüssigkeit in der histologischen Technik der Haut (Monath. f. prakt. Dermat. Bd. XXXVIII, 1904, p. 532). — Panse, Chromatinfärbung (Zentralbl. f. Bakter. Abt. I; Bd. XXX, 1901. p. 804; Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XIX, 1902, p. 69; Baumg. Jahresber. 1901: Bd. XVII, p. 932). — Pappenheim, Deutsche mediz. Woch. 1901; Virch.

Arch. Bd. 145 u. 151. — Idem, Grundriß der Färbechemie, Berlin 1901. Pezopoulo u. Cardamati, Die Malaria in Athen (Zentralbl. f. Bakter. Abt. I; Orig. Bd. XL, 1906, p. 480; Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXIII, 1906, p. 465). — Pianese, Di un nuovo metodo di colorazione doppia per tessuti con o senza microorganismi (Riforma medica 1893, p. 828; Baumg. Jahresb. IX Jahrg. 1893, p. 652). — Idem, Nuovi metodi di fissazione e colorazione del sangue (Gazzetta internazionale di medicina pratica, no. 1, 1902; Rif. in Ergebnisse der Allg. Path. u. path. Anat. 1908, p. 7). — Plehn, Ätiologische und klinische Malariastudien, Berlin 1890 (Ampio refer. in Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. VIII, 1891, p. 358). — Idem, Zur Färbetechnik für die Darstellung der „karyochromatophilen Körner" im Blute der Bewohner von Malariagegenden (Deutsche med. Woch. 1899, No. 44; Ref. in Zentralbl. f. Bakter. I. Abt., Bd. XXVII, 1900, p. 627). — Idem, Schnellfärbung und Schnittfärbung nach Romanowsky (Arch. f. Schiffs- und Tropen-Hygiene Bd. VIII, H. 11, p. 507 u. Bd. IX; H. 1, p. 17). — Pröscher, Zur Blutfärbetechnik (Zentralbl. f. allgem. Pathol. Bd. XVI, 1905, p. 849).

Rawitz, B., Lehrbuch der mikroskopischen Technik. Leipzig, W. Engelmann, 1907. — Renaut, Sur l'eosine-hématoxylique et sur son emploi en histologie (Compt. Rend. Acad. Sc Paris t. LXXXVIII, p. 1039; Arch. de Physiol. 1881, p. 640). — Reuter, Über den färbenden Bestandteil der Romanowsky. Nochtschen Malariaplasmodienfärbung (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. I, Bd. XXX, 1901, p. 248; Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XVIII, p. 314, Baumg. Jahresb. Bd. XVII, 1901, p. 936). — Idem, Weitere Beiträge zur Malariaplasmodienfärbung mittels A Methylenblaueosin (Zentralbl. f. Bakter. Abt. I; Orig. Bd. XXXII, p. 842, 1902; Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XIX, 1902, p. 387). — Romanowsky, Zur Frage über den Bau der Malariaparasiten (Wracz. 1890, p. 1171). — Idem, Zur Frage der Parasitologie und Therapie der Malaria (St. Petersb. Mediz. Woch. 1891, No. 34—35 (Orig. Mitt.); Baumg. Jahresb. VII. Jahrg. 1891, p. 384). — Rosenberger, New blood stain. (Philadelphia med. Journ. Bd. VII, 1901, p. 448; Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XVIII, 1901, p. 476). — Rosin, Deutsche med. Woch. 1898; Berlin med. Woch. 1899, p. 251; Zentralbl. f. Physiol. Bd. XIII, 1900, p. 561; Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XVII, 1901, p. 333. — Roß, The thick film process for the detection of organism in the blood (Thomson Yates and Johnston Laborat. Rep.; vol. V, 1903, p. 115). — Idem, A improved method for the microscopical diagnosis of intermittent Fever (Lancet, 81, 1903, 10 Jan.; Ref. in Zentr. f. Bakter. Abt. I; Referate, Bd. XXXIII, 1903, p. 418. Journ. of. state med. 1902, Decemb.). — Rubinstein, Zeit. f. wiss. Mikrosk. 1898. Bd. XIV. — Ruge, Ein Beitrag zur Chromatinfärbung, (Zeit. f. Hyg. u. Inf. Bd. XXXIII, 1900, p. 178; Ref. in Zentralbl. f. Bakter. I. Abt., 1900; Bd. XXXIII, p. 403). — Idem, Zur Diagnosefärbung der Malariaparasiten (Deutsche med. Woch. Bd. XXVI, No. 28, p. 447). — Idem, Einführ. in d. Studium der Malariakrankh. Jena 1901. — Rhumbler, Zeit. f. wiss. Zool. Bd. LXI, 1895, p. 38.

Sacharoff, Über die Entstehung der eosinophilen Granulationen des Blutes (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. XLV, 1895, p. 370; Zeit. f. wiss. Mikrosk. 1895. Bd. XII, p. 378). — Sapegno, Colorazione dei granulociti

nei tessuti (Giornale della R. Accademia di Medic. Torino 1908, p. 68). — Schiefferdecker, Kleinere histologische Mitteilungen (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. XV, p. 30). — Schleip, Atlas der Blutkrankheiten nebst einer Technik der Blutuntersuchung. Berlin und Wien, Urban & Schwarzenberg, 1907. — Schmorl, Die pathologisch-histologischen Untersuchungsmethoden. Dritte. Aufl. Leipzig, Vogel, 1905. — Idem, Deutsche med. Woch. 1907, p. 876. — Schridde, Die Darstellung der Leukozytenkörnelungen im Gewebe (Zentralbl. f. allg. Path. Bd. XVI, 1905, p. 770; Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXIII, 1906, p. 213). — Schüffner, Beitrag zur Kenntnis der Malaria (Deutsches Arch. f. klin. Med. Bd. LXIX, 1899, p. 428; Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XVIII, 1901, p. 45). — Spiegel, Bakterienfärbung mit eosinsaurem Methylenblau nach May-Grünwald (Zentr. f. Bakt. Orig. Bd. XL, No. 3). — P. W. Squire, Methods and formulae used in the preparation of animal and vegetable tissues for microscopical examination including the staining of Bacteria. London Churchill, 1892. — Sternberg, C., Eine Schnittfärbung nach der Romanowskyschen Methode (Zentralbl. f. allgem. Pathol. u. patholog. Anatomie Bd. XVI, 1905, p. 293; Ref. in Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXII, 1905, p. 416). — Stowell, Coloration différentielle des globules nuclées du sang (The microsc. and its relat. to med. and pharm. 1882). — Stschastnyi, Über die Histogenese der eosinophilen Granulation im Zusammenhang mit der Hämolyse (Beitr. z. path. Anat. u. allg. Path. Bd. XXXVIII, 1905, p. 456; Ref. in Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXIV, 1907, p. 45).

Teichmüller, Das Vorkommen und die Bedeutung der eosinophilen Zellen im Sputum (Deutsche Arch. f. klin. Med. Bd. LX, 1898, p. 576; Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XV, 1898, p. 472). — Idem, Die eosinophile Bronchitis (Deutsche Arch. f. Klin. Med. Bd. LXIII, 1899, p. 444; Zeit. f. wiss. mikrosk. Bd. XVI, 1899, p. 448). — Tulloch, An alternative solvent for Leihsman's stain (Journ. of the Royal Army Med. Corps vol. III, p. 166). — Turk, Vorlesungen über klin. Hämatologie, 1904 (Wiener klin. Woch. 1901, No. 18).

Unna, S. G., Zur Färbung der roten Blutkörperchen und des Pigments (Monath. f. prakt. Dermatol. Bd. XXI, 1895, p. 1).

Vallet, Compt. R. Soc. Biolog. T. LX, p. 22, Paris 1906. — Viereck, Die Romanowskyfärbung nach May (Münch. mediz. Woch. 1906, No. 29, p. 1414).

Warner, The Warner-Ziemann-Romanowsky Staining method (Med. Fortnightly St. Louis Vol. XXVIII, p. 323). — Wasielewski u. Senn, Zeit. f. Hyg. Bd. XXXIII, 1900, p. 451. — Weidenreich, Eine neue einfache Methode zur Darstellung von Bluttrockenpräparaten (Folia Hämatol. 1906; Ref. in Münch. mediz. Woch. Jahrg. LIII, 1906, p. 384 u. in Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXIV, 1907, p. 170). — Archiv f. mikr. Anatomie Bd. LXIX, 1906, p. 389; Ref. in Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXIV, 1907, p. 172. — Willebrandt, Eine Methode für gleichzeitige Kombinationsfärbung von Bluttrockenpräparaten mit Eosin und Methylenblau (Deutsche med. Woch. 1901, p. 57; Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XVIII, 1901, p. 69). — Wilson, Th., On the Chemistry and staining properties of certain Derivatives of

the Methylene Blue Group when combined with Eosin (Journ. of exper. Med. Vol. IX, no. 6. p. 645). — Withman, R. G., Two modifications of the Leishman stain (Journ. of med. research. Bd. XV, 1906, p. 97). — Wood, A simple and rapid chromatin stain for the malarial parasite (Proceed of the New York Pathol. Soc., New Ser., vol. III, p. 42; Ref. in Zentralbl. f. allg. Path. Bd. XVI, 1905, p. 450). — Wright, A rapid method for the differential staining of blood films and malarial parasites (Journ. med. research. vol. VII, p. 138). — Idem, The Lancet, year 82, vol. II, p. 73. — Idem, s. Mallory a. Wright, loc. cit. p. 365.

Zettnow, Romanowskis Methode Färbung bei Bakterien (Zeit. f. Hyg. u. Infektionskrank. Bd. XXX, 1899, p. 1; Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XVI, 1899, p. 255). — Idem, Deutsche med. Woch. 1900, No. 23, Zentralbl. f. Bakter. Abt. I, Bd. XXVII, 1900, p. 801. — Zieler, Zur Darstellung der Leukozytenkörnelungen sowie der Zellstrukturen und der Bakterien im Gewebe (Zentralbl. f. allg. Path. Bd. XVII, 1906, p. 433). — Ziemann, Eine Methode der Doppelfärbung bei Flagellaten, Pilzen, Spirillen und Bakterien, sowie bei einigen Amöben (Zentralbl. f. Bakter. Abt. I, Bd. XXIV, 1898, p. 944). — Idem, Über Malaria und andere Blutparasiten. Jena, 1898, Fischer. — Zollikofer, Zeit. f. wiss. Mikrosk. Bd. XVII, 1901, p. 313.

S. auch: Encyklopädie der mikroskopischen Technik bei den Artikeln Blut, Eosin, Neutrale Farbstoffe, Malariaparasiten.

[Eingegangen am 30. März 1909.]

Aus dem Pathologischen Institut des Urban-Krankenhauses zu Berlin.
Direktor: Prof. Dr. C. BENDA.

Zur Technik der Elastika- und Bindegewebsfärbung.

Von

Dr. Emil Savini und **Dr. Therese Savini-Castano**

Vol.-Assistent der II. med. Univ.-Klinik — Vol.-Assistentin der Univ.-Kinderklinik
der Kgl. Charité in Berlin.

Hierzu eine Textabbildung.

Was zunächst die Art der Fixierung für das Bindegewebe anbetrifft, so ist für eine scharfe Färbung desselben nur die Alkoholfixierung zweckmäßig, und zwar sei es für die Färbung mit dem VAN GIESON-Gemisch, oder auch mit anderen hierfür geeigneten Farbstoffen, während sich bei den anderen Fixierungsmethoden das Bindegewebe immer nur diffus tingieren läßt. Die Fixierung soll möglichst bald nach der Sektion vorgenommen werden.

Was nun, in Hinsicht auf die Zuverlässigkeit der Fixierungsmethode, speziell für die Elastikafärbung zu sagen ist, so weichen hierin die Ansichten der Autoren etwas voneinander ab. Während z. B. WEIGERT sagt, wenigstens für seine Methode, daß die Art der Fixierung gleichgültig sei und auch Formol dazu gebraucht werden kann, warnen andere Autoren vor der Formolfixierung (B. FISCHER, E. GOLDMANN u. a.) und empfehlen als die beste diejenige in Sublimat oder Alkohol; noch andere wieder halten die Chrom- oder Chromosmiumfixierung für die empfehlenswerteste. Wir selbst haben die Empfindung gehabt, daß die Formolfixierung sich nicht weniger gut erweist, wenigstens lassen sich die elastischen Fasern ebenso scharf und intensiv färben, wie dies bei Alkohol, Sublimat und Chromosmium der Fall ist. Meistens haben wir die Stücke bald nach der Sektion teils in 10prozentigem Formol, teils in 93prozentigem Alkohol

fixiert und auf diese Weise stets sehr gute Resultate erhalten. Die Stücke wurden dann in dünne Gefrierschnitte zerlegt oder in Celloïdin eingebettet verarbeitet, zuweilen auch in Paraffin.

Zunächst möchten wir aber noch ein paar spezielle Bemerkungen über einige der gebräuchlichsten Schnittfärbemethoden vorausschicken.

Für die Hämatoxylinfärbung haben wir, dem Beispiele des Prof. Benda folgend, mit Vorteil ausschließlich Boehmers Hämatoxylin angewandt, und zwar in folgender Weise: Die Schnitte kommen aus dem Wasser in die halbverdünnte Farblösung während etwa 10 bis 20 Minuten, werden dann in destilliertem Wasser gut gewaschen (eventuell im Falle einer leichten Überfärbung mit sehr verdünnter Essigsäurelösung differenziert und dann wieder in destilliertem Wasser gut ausgewaschen), sodann in alkoholischer Eosinlösung 2 bis 3 Sekunden nachgefärbt, in 96prozentigem und absolutem Alkohol entwässert, in Kreosot aufgehellt, dann Xylol, Trocknen, Kanadabalsam.

Das Böhmersche Hämatoxylin färbt nicht alle Elemente, wie z. B. das Delafieldsche, sondern ist vielmehr elektiv und aus diesem Grunde vorzuziehen.

Das Kreosot, welches von Prof. Benda sehr warm empfohlen wird, ist ein ausgezeichnetes Aufhellungs- und auch Entwässerungsmittel; in dasselbe können die Schnitte direkt aus 96prozentigem Alkohol gebracht werden, es entwässert und hellt schnell und gut auf. Es erhält sich lange Zeit brauchbar in gut zugedeckten Schalen, wenn man ab und zu zur Vorsicht ein Stückchen geglühten Kupfersulfats zur Entwässerung dazu tut. Das Kreosot kann nach Karmin-, Hämatoxylin- und allen mit sauren Anilinfarbstoffen vorgenommenen Färbungen mit bestem Erfolg angewendet werden und ist besonders für Gefrierschnitte zu empfehlen. Bloß bei basischen Anilinfarbstoffen darf man es wegen seiner starken entfärbenden Kraft nicht anwenden, man nimmt in einem solchen Falle besser Bergamott- oder Cajeputöl.

Die Eisenhämatoxylinfärbung nach Benda und nach Heidenhain stellt eine vorzügliche Färbemethode dar, die uns die besten Resultate ergeben hat und daher nicht genug empfohlen werden kann. Wenn es noch Fälle gibt, wo die gewöhnlichen Hämatoxylinfärbungen versagen, so ist das bei Eisenhämatoxylin niemals der Fall. Zur Nachfärbung haben wir meistens das van Giesonsche Säurefuchsinpikrinsäuregemisch benutzt, jedoch nicht in der bekannten Weise, indem man die in Hämatoxylin stark überfärbten Schnitte in van Giesonsche Lösung überträgt, wodurch die Differenzierung derselben überlassen wird. Dadurch bekommt man aber fast immer un-

brauchbare Präparate, denn um eine gute Differenzierung zu erhalten, soll man längere Zeit färben und dadurch ist eine Überfärbung mit van Gieson nicht zu umgehen. Hierdurch wird das Präparat viel zu stark mit van Gieson gefärbt und die Hämatoxylinfärbung zu sehr zurückgedrängt. Wir haben zuerst die Schnitte in 30prozentiger Essigsäure differenziert und dann ziemlich kurz (ungefähr 2 bis 4 Minuten) mit van Gieson nachgefärbt unter häufiger Kontrolle des Intensitätsgrades in der Färbung, dann direkt durch 80-, 96prozentigen und absoluten Alkohol zu Kreosot gebracht, hierauf Xylol, Trocknen, Kanadabalsam.

Die allerbesten Resultate haben wir aber mit einer Anfang 1906 von Prof. Benda hergestellten Pikrin-Säurefuchsinmischung erzielt, welche noch unbekannt ist und deren Veröffentlichung H. Prof. Benda uns gütigst überlassen hat. Diese Farblösung wird folgendermaßen hergestellt: Es wird eine Stammlösung bereitet, indem man 95 Vol. gesättigter pikrinsaurer Ammoniaklösung[1] mit 5 Vol. einer einprozentigen Säurefuchsinlösung vermischt; diese bläulichrote Stammlösung ist unbegrenzt lange haltbar. Zum Gebrauch werden zu etwa 10 cc derselben in eine Uhrschale ein bis 2 Tropfen von einer gesättigten Pikrinsäure mit dem Glasstab zugesetzt und gut gemischt, im Augenblick nimmt die Farblösung einen gelbroten Ton an.

Man kann ruhig ohne jeden Schaden auch 3 bis 4 Tropfen von der Pikrinsäurelösung zusetzen, nur nimmt die Flüssigkeit einen stärkeren gelben Ton an und die damit erzielte Schnittfärbung wird entsprechend stärker gelb ausfallen.

Die schon gut differenzierten Schnitte kommen in diese Farblösung für 10 bis 15 Minuten und werden dann wie gewöhnlich weiter behandelt. Übertragen in Wasser ist auch hier zu vermeiden, der Schnitt kommt direkt in 80prozentigen Alkohol, etc.

Interessant ist es, daß die frisch hergestellte Stammlösung schon an und für sich, also ohne Pikrinsäurezusatz, eine gute Färbekraft besitzt, welche sie aber mit der Zeit einbüßt; vielleicht ist das damit zu erklären, daß nach und nach eine innige Verbindung zwischen den beiden Substanzen stattfindet, welche keine Färbekraft hat und die Pikrinsäure würde diese Verbindung wieder dissoziiren. Es scheint, daß nur der Pikrinsäure diese Fähigkeit zu-

---

[1]) Da die Pikrinsalze in trocknem Zustande meist stark explosiv sind, so beziehe man eine solche Lösung am besten gebrauchsfähig, die ja wohl überall vorrätig sein dürfte.

kommt; andere Säuren, wie z. B. Essigsäure, Salzsäure, sind nicht dazu geeignet.

Während nun die gewöhnliche van Gieson-Farbmischung eine gesättigte Pikrinsäurelösung (mit etwas Säurefuchsin) (Pikrinsäure = 2, 4, 6 Trinitrophenol, in 100 Teilen Wasser bei 15° C 1·161 Teile löslich, in Alkohol viel stärker), durch deren sauren Eigenschaften eine so starke Differenzierung zustande kommt, darstellt, ist das Ammoniumpikrat $[C_6H_2.(NO_2)_3.ONH_4]$ ein neutral reagierendes Pikrinsalz, welches ebenso gute Färbekraft besitzt, dabei aber die vorangegangene Färbung nicht angreift. Von demselben wird überall gesagt, daß es gelbe, in Wasser leicht lösliche Kristalle darstellt, ohne daß aber die Löslichkeitsverhältnisse genauer angegeben werden. In Alkohol ist es schwer löslich, so daß dieser weniger in Betracht kommt. Das Bendasche Pikrin-Säurefuchsingemisch wird durch Zusatz einer sehr kleinen Menge Pikrinsäure nur schwach angesäuert, so daß bei ausgezeichneter Färbekraft keine unangenehme Entfärbungswirkung zurückbleibt.

Die Hauptvorzüge dieses modifizierten van Gieson-Gemisches bestehen eben darin, daß es eine vorzügliche abstufbare Färbung gestattet, ohne dabei eine Überfärbung zu bewirken, auch wenn die Schnitte mehrere Stunden (über Nacht) darin verweilen und weiter auch keine Entfärbung bewirkt, so daß die Hämatoxylinfärbung dadurch gar nicht zurückgedrängt wird. Wie auch bei der gewöhnlichen van Giesonschen Färbung wird auch hier der Ton des Hämatoxylins schwarz, so daß dadurch eine sehr schöne Kontrastfärbung zustande kommt.

Ebensogut bei der Eisen-, wie bei der Böhmer-Hämatoxylinfärbung haben wir eine Orange G-Kontrastfärbung an Stelle der van Gieson- resp. Eosinnachfärbung treten lassen und sehr schöne Präparate dabei erhalten. Dabei ist es aber wesentlich, wie Prof. Benda schon seit langem verfährt, eine sehr schwache Orange G-Lösung mit kurzer Färbedauer anzuwenden, denn nur auf diese Weise ist eine schöne Kontrastfärbung und leichte Differenzierung zu erzielen. Die mit Eisenhämatoxylin gefärbten Schnitte müssen vorher schon differenziert sein. Nimmt man eine stärkere Orangelösung, so wird alles überfärbt und die vorhergehende Hämatoxylinfärbung bedeckt.

Elastikafärbemethoden. a) Weigertsche Elastikafärbung mit nachträglicher Alaun- oder Lithionkarminfärbung. Hier haben wir zu bemerken, daß in den etwas älteren Farblösungen ein

Niederschlag entsteht, deswegen ist das Filtrieren notwendig; dann darf man mit einer solchen alten Lösung nur weniger als 30 Minuten färben, am besten 15 bis 20 Minuten, sonst wird die Differenzierung in Salzsäurealkohol ungemein schwierig und nimmt auch zu viel Zeit in Anspruch, ehe nur die Elastika allein gefärbt bleibt.

b) Orceïnfärbung liefert noch schönere Präparate als die Weigertsche Methode und ist dieser auch deshalb vorzuziehen, weil hier eine Nachfärbung mit Hämatoxylin möglich ist, während bei Weigert außer der Karminfärbung kaum eine andere anwendbar ist, auch liefert die Hämatoxylinfärbung ungemein präzise und bessere Präparate als die Karminfärbung.

Wir haben uns der älteren Tänzer-Unnaschen Methode bedient, aber in der Modifikation, wie sie im Bendaschen Laboratorium üblich ist: Zu einer Schale mit etwa 10 cc Salzsäure-Alkohol (1 cc konz. HCl + 100 cc 70proz. Alkohol) werden aus einer vorrätigen gesättigten 90prozentigen alkoholischen Orceïnlösung ungefähr 2 Tropfen zugesetzt, damit das Färbebad eine schwache Himbeerfärbung annimmt; die Schnitte verbleiben darin 2 bis 3 Tage, manchmal auch noch länger, jeden Tag werden sie einmal unter dem Mikroskope kontrolliert, ob die Elastika sich genügend gefärbt hat. Ist dies der Fall, so hat man eine schöne Färbung aller bis zu den feinsten elastischen Fasern erreicht, indem der Grund fast oder ganz farblos geblieben ist. Somit ist eine Differenzierung in Salzsäure-Alkohol nicht mehr nötig. Diese Färbung eignet sich besonders für die Nachfärbung mit einem kontrastreichen basischen Anilinfarbstoff, nachdem die Schnitte gründlich in destilliertem Wasser ausgewaschen sind.

Der Nachteil hierbei ist, daß die Färbung zu lange dauert und manchmal erlebt man die unangenehme Überraschung, wenn die Überwachung etwas außer acht läßt, daß die Schnitte überfärbt sind. In einem solchen Falle ist die Differenzierung nicht mehr möglich oder doch äußerst schwierig und man muß mit neuen Schnitten das Experiment wiederholen. Hat man aber richtig verfahren und schön gefärbte Schnitte bekommen, so ist die Schärfe und die Schönheit der Färbung bei allen bis zu den feinsten Fäserchen eine hervorragende.

Die Nachfärbung wird mit Böhmer- oder Eisenhämatoxylin in der üblichen Weise vorgenommen. Wenn der Kontrast noch schärfer sein soll, so kann man nach der Hämatoxylinfärbung die Schnitte eine kurze Zeit in einer Schale mit destilliertem Wasser, dem ein Tropfen von einer stärkeren Borax- oder Lithionkarbonatlösung zu-

gesetzt worden war, lassen; dadurch wird der Ton der Hämatoxylinfärbung gut blau und kontrastiert sehr schön mit den intensiv rot gefärbten elastischen Fasern.

Statt der Hämatoxylinfärbung kann man auch ebensogut eine Methylenblau- oder noch besser eine Toluidinblaufärbung folgen lassen.

Um sich von diesen Substanzen gute Stammlösungen für Schnitt- oder Bakterienfärbungen zu bereiten, stellt man sich davon auf die von L. Michaëlis längst empfohlene Weise, eine in destilliertem Wasser gesättigte Lösung her, welcher erst nach ein bis 2 Tagen das gleiche Volumen 90prozentigem Alkohol zugesetzt und gut gemischt wird. Solche Farblösungen sind sehr dauerhaft und besitzen eine große Färbekraft. Zum Gebrauch werden hiervon einige Tropfen in eine Uhrschale mit destilliertem Wasser gegossen und der Schnitt darin etwa 15 Minuten lang gefärbt, dann in Wasser ausgespült, mit 96prozentigem und absolutem Alkohol schnell entwässert und dann weiter durch Bergamott- oder Origanöl und Xylol in neutralem Kanadabalsam eingeschlossen. Hat sich der Schnitt aber zufällig überfärbt, dann wird er in mit etwas Essigsäure versetztem Wasser zuerst differenziert und dann sofort und schnell in absolutem Alkohol entwässert und weiter behandelt; man vermeide schwächere Alkohole, welche in diesem Falle stark die Farbe ausziehen würden.

Jede rote Vor- oder Nachfärbung (Karmin, van Gieson, Eosin) mit oder ohne Hämatoxylinfärbung ist wegen der Ähnlichkeit, auch wenn die Nuancen andere sind, zu vermeiden; das Präparat würde dadurch nur undeutlich. Höchstens kann man nach der Hämatoxylinfärbung eine schwache Orangetingierung nicht ohne jeden Vorteil vornehmen, doch ist dies nicht durchaus nötig und kann ohne allen Schaden beiseite gelassen werden.

c) Eine eigene von uns schon Anfang März 1906 zusammengestellte und ausgeführte Methode zur Elastikafärbung hat hauptsächlich den Zweck, die Färbedauer des elastischen Gewebes mittels Orceïn wesentlich zu verkürzen, wobei aber die Färbung ebensogut gelingt. Auf dieselbe möchten wir etwas ausführlicher eingehen.

Bekanntlich wird das Orceïn aus verschiedenen an sich ungefärbten Flechtenarten, wie Roccella tinctoria, Lecanora tinctoria, Variolaria u. a. gewonnen, welche der Lufteinwirkung bei Gegenwart von Alkalien (Ammoniak, Kalk) ausgesetzt werden; es findet dadurch eine Art Gärung statt, wodurch die in den Flechten enthaltenen eigentümlichen Säuren, wie Erythrin-, Lecanor-, Roccella-

säure, usw. gespalten und oxydiert werden; hierdurch entstehen eine Reihe neuer Spalt- und Oxydationsprodukte, darunter die Orcincarbonsäure und aus dieser weiter das farblose in sechsseitigen monoklinen Prismen kristallisierende Produkt, welches Orcin benannt worden und dessen Formel folgende ist:

CH_3 (Benzolring) HO, OH — Orcin = Methylphendiol (3,5) + H_2O.

Schreitet die Einwirkung der Luft bei Anwesenheit von Ammoniak auf das Orcin weiter fort, so wird dasselbe weiter oxydiert und, indem es noch Ammoniakgruppen bindet, geht es in das gefärbte Produkt über, welches unter dem Namen Orceïn bekannt ist und das färbende Prinzip der käuflichen unreinen Orseille (meist in Form des Ammoniaksalzes) darstellt; das Orceïn steht dem Lackmus und insbesondere dem Azolitmin ziemlich nahe. Aus dem Gemenge, in welchem das Orceïn sich wahrscheinlich in Form eines alkalischen oder erdalkalischen Salzes vorfindet, kann es rein erhalten werden.

In diesem letzteren Zustande stellt das Orceïn ein Pulver dar, welches aus braunen mikroskopischen Kristallen besteht und in Alkohol, Aceton, Essigsäure löslich, dagegen in Äther, Benzol, Schwefelkohlenstoff, Chloroform unlöslich ist. In destilliertem Wasser ist das Orceïn leicht löslich und gibt daselbst eine intensiv purpurrot gefärbte Lösung ab, welche schwach sauer reagiert. Bei dem geringsten Alkalizusatz wandelt sich die rote Farbe sofort in eine blauviolette um, und zwar genügt schon der geringe Alkaligehalt des Leitungswassers vollkommen, um dieselbe zu erzeugen. Es scheint uns als sehr wahrscheinlich, daß das Orceïn eine schwache rotgefärbte Säure darstellt, welche durch Alkalien sehr leicht in blaugefärbte salzartige Verbindungen übergeht. Schon Berzelius hatte die Wahrnehmung gemacht, daß das Orceïn sich gegen Basen wie eine Säure, wenn auch eine schwache, verhält und es deswegen Orceïnsäure genannt.

Die genaue Formel des Orceïns ist noch unbekannt. Liebermann nimmt an, daß aus Orcin durch Einwirkung des NH_3 sogar zwei Orceïne entstehen sollten, und zwar je nach der Dauer der Einwirkung: $C_{14}H_{13}NO_4$ und $C_{14}H_{12}N_2O_3$. Gegenwärtig werden für das Orceïn meistens folgende zwei Formeln angegeben: $C_7H_7NO_3$ und $C_{28}H_{24}N_2O_7$.

In der industriellen Farbchemie ist weiter noch bekannt, daß das Orceïn mit Metalloxyden (Schwermetalle, Kalk) unlösliche Lacke bildet, dieselben werden jedoch nicht zu den Beizfarbstoffen gezählt.

Würden die Bedingungen, unter welchen der Gärungsprozeß vor sich geht, in etwas anderer Weise bestimmt, z. B. wenn dieselben Flechtenarten wie bei der Orceïnbildung einer viel länger dauernden Gärung unterworfen würden und dem Gemisch im Anfang Pottasche und Ammoniumkarbonat und später, nachdem die Masse violett geworden ist, noch Kalk, Ammoniakwasser (oder fauler Harn) und Pottasche zugesetzt würde, um dann wieder einige Wochen dem Fäulnisprozeß überlassen zu werden, so würde in der Reihe der Spalt- und Oxydationsprodukte auch Orcin entstehen, aber aus diesem weiter nicht mehr Orceïn, sondern ein andrer Farbstoff, nämlich das Lackmus. Derselbe ist, ähnlich dem Orceïn, in reinem Zustande ebenfalls rot, gibt bekanntlich eine rote Lösung, welche auch sehr schwach sauer reagiert und durch geringe Alkalimengen sehr leicht in eine blaue übergeht unter Salzbildung. Um aus reinem Orcin Lackmus zu erhalten, muß dasselbe mehrere Tage mit Ammoniak und Soda digeriert werden. Das Lackmus ist ein Gemenge verschiedener Substanzen, darunter mehrerer Farbstoffe, von denen das Azolitmin das einzig wichtige bis jetzt ist. Dasselbe ist in reinem Zustande dem Orceïn ziemlich ähnlich, indem es auch eine schwache und rot gefärbte Säure darstellt, welche mit geringen Alkalimengen blaugefärbte Salze bildet.

Während aber das Lackmus und auch das Azolitmin wegen ihrer geringen Färbekraft in der mikroskopischen Technik kaum zur Anwendung gekommen sind, hat sich dagegen das Orceïn als ein ausgezeichnetes Färbemittel für bestimmte Zwecke bewährt. Zuerst von Israel in die bakteriologische Technik (1886) eingeführt, wurde es schon ein Jahr später von Tänzer mit Erfolg als spezifisches Elastikafärbemittel angewandt und in der späteren Unnaschen Modifikation (1891) wird es heute überall benutzt. Andere Autoren und zuletzt Unna selbst, haben das Verfahren noch weiter modifiziert, ohne jedoch nennenswerte Verbesserungen zu erzielen. Insbesondere das neuere Unnasche Verfahren, welches die Färbedauer durch Anwendung einer einprozentigen Orceïn- in einprozentiger HCl-Lösung wesentlich zu verkürzen bezweckt, gibt so stark überfärbte Präparate, welche es entweder unmöglich machen dieselben gut zu differenzieren oder die Differenzierung ist sehr schwierig, dauert sehr lange und gelingt nur unvollkommen, so daß wir wieder zum alten Tänzer-Unnaschen Verfahren zurückgreifen mußten.

Die Nachteile des letzteren, welche schon oben besprochen wurden, haben uns veranlaßt nach einem besseren, vor allen Dingen

rascheren Färbeverfahren der Elastika zu suchen. Der leitende Gedankengang war folgender: Bei dem Gärungsprozeß, in welchem schließlich Orceïn entsteht, sahen wir, daß aus farblosen Produkten in einem alkalischen Medium eine Reihe Spalt- und Oxydationsprodukte hervorgehen, bis endlich ein kräftiger Farbstoff daraus resultiert. Dasselbe braucht aber, wenigstens theoretisch, nicht als letztes Glied der sich abspielenden Prozesse angesehen zu werden, eventuell kann es auch ein Zwischenprodukt darstellen. Als Beweis dafür gilt uns die Tatsache, daß bei verlängerter Gärung, auch wenn die nötigen chemischen Bedingungen nur etwas geändert sind, immerhin auch in alkalischer Lösung, ein anderes Produkt, das Lackmus entsteht, welches unzweifelhaft als eine noch fortgeschrittenere Oxydationsstufe als das Orceïn angesehen werden darf, aber immerhin ein Orcinderivat darstellt. Wenn wir also diesen Weg einschlagen wollten, in alkalischer Lösung weiteren Derivatprodukten des Orceïns nachzuspüren, so würden wir zu schwächeren Farbstoffen gelangen und schließlich vielleicht zu Leukoprodukten, wovon wir uns später überzeugen konnten. Eher schien es uns wahrscheinlicher aus reinem Orceïn ohne Alkalizusatz, also in neutraler oder saurer Lösung, eine weitere Oxydationsstufe des Orceïns zu finden. Hierdurch hofften wir, eventuell mit Zuhilfenahme irgendeiner als Beize vermuteten chemischen Substanz, ein Färbemittel mit einer noch größeren spezifischen Affinität für die Elastika als das Orceïn zu gewinnen, welches entweder eine substantive oder eine adjektive Färbung derselben gestattet, wobei alle, auch die feinsten elastischen Fasern präzise und intensiv tingiert werden und die Färbung für dieselben eine spezifische sein soll.

Dieser Gesichtspunkt war um so berechtigter, als allgemein bekannt ist, daß die Elastika eben nur in saurer Lösung eine Bevorzugung für das Orceïn zeigt. Dann war das Beispiel Weigerts zu beachten, welcher bekanntlich aus einer chemisch genau bestimmten Substanz, dem basischen Fuchsin, das sonst wenig Affinität für die elastischen Fasern besitzt, durch Oxydation und Hinzunahme einer Beize ein so ausgezeichnetes spezifisches Färbemittel für die Elastika gefunden hatte.

Unser ganzes Problem konnten wir nun also auf der Lösung folgender Frage konzentrieren: Sind wir überhaupt imstande, aus dem Orceïn durch Oxydation in einem nicht alkalischen Medium, eventuell mit Hilfe einer Beize, einen besseren Elastikafarbstoff, vielleicht einen Lackfarbstoff mit spezifischer erhöhter Färbekraft für die elastischen Fasern zu erzielen?

Gegen diese unsere Vermutung sprach aber die Bemerkung A. Pappenheims, indem derselbe sagt, daß die zuerst mit Resorcin vorbehandelten elastischen Fasern, welche eine so ganz besondere Fähigkeit Fuchsin zu binden erlangt haben, ihre Fähigkeit Pikrinsäure, Orceïn oder Viktoriablau aufzunehmen, mehr oder weniger eingebüßt haben sollen, auch wenn sie zu den letzteren vorher, also ohne Resorcinbehandlung, eine exquisite Affinität offenbarten.

Bei der Auswahl der Beizsubstanzen haben wir uns zuerst an das allgemeine Gesetz gehalten und da das Orceïn einen sauren Farbstoff von phenolischem Charakter darstellt, so haben wir zuerst von solchen Beizen Gebrauch gemacht, welche basischer Natur waren, später aber auch andere chemische Substanzen angewendet, um unlösliche Salzverbindungen bilden zu können. Die Resultate waren verschieden, je nach der als Beize angewandten Substanz (Metallsalze, darunter verschiedene Alaune, Phenole, anorganische und organische Säuren.)

Als Oxydationsmittel wurden sehr verschiedene mit diesen Eigenschaften versehene Substanzen (Kaliumpermanganat, Chromsäure, Kaliumdichromat, Halogene, Eisenchlorid, Ammoniumpersulfat usw.), ab und zu auch mehrere derselben bei der Bereitung der Farbflüssigkeit angewandt. Die oxydierenden Substanzen wurden immer in verhältnismäßig großen Mengen genommen, damit eine intensive, ausreichende oxydierende Wirkung erzielt wird.

Praktisch wurde etwa folgendermaßen verfahren: 1 g Orceïn [1] mit der doppelten Menge der als Beize genommenen Substanz wurden in ein größeres (etwa 300 bis 400 cc Inhalt) Becherglas oder Erlenmeyerkölbchen gebracht, dann ungefähr 150 cc destillierten Wassers hinzugefügt und sofort bei offener Gasflamme auf einer Asbestplatte zum Kochen gebracht. Wenn die Lösung wegen der Natur der zugesetzten chemischen Substanz nicht sauer reagierte, so wurde durch Zusatz einer $\frac{n}{10}$ Mineralsäure (meist HCl, aber auch andere) eine schwache aber deutlich sauere Reaktion erreicht. Man läßt dann längere Zeit (15 bis 20 Minuten) kochen, indem man ab und zu das Gemisch umrührt. Endlich wird der kochenden Flüssigkeit das Oxydans

[1]) Wir haben uns meistens des Grüblerschen Orceïns bedient, doch bekommt man auch sehr gute Resultate mit den anderen Sorten käuflichen Orceïns.

Man könnte vielleicht statt der einprozentigen auch eine in Wasser gesättigte Orceïnlösung nehmen.

zugesetzt, und zwar in kleinen Portionen und läßt man nun alles unter möglichst häufigem Umrühren noch 20 bis 30 Minuten kochen. Sollte die Flüssigkeitsmenge zu stark einkochen, so wird etwas heißes destilliertes Wasser zugesetzt und dann weiter gekocht.

Bei dem Zusatz der oxydierenden Substanz entsteht gewöhnlich ein Niederschlag, die Flüssigkeit nimmt eine dunkle schmutzig braunschwarze Farbe an und es entwickelt sich sehr reichlich Schaum, welcher Niederschlagspartikelchen mit sich emporhebt; es ist also gut aufzupassen, damit nichts vom Niederschlage durch Überschäumen verloren geht.

Nach völligem Erkalten wird die Flüssigkeit filtriert und dann das Gefäß, in welchem immer ein Teil des Niederschlages haften bleibt und das Filter mit dem Niederschlag so lange mit destilliertem Wasser ausgespült, bis das Wasser vollkommen klar durchgeht und alles Wasserlösliche verschwunden ist. Sodann wird sorgfältig das Filter mit dem Niederschlag in dasselbe Gefäß gebracht und mehrere Stunden (über Nacht) im Paraffinofen gelassen. Es ist selbstverständlich, daß bei diesen Manipulationen dafür Sorge zu tragen ist, daß nichts vom Niederschlag verloren geht. Nach vollkommenem Austrocknen bildet der Niederschlag gewöhnlich ein mehr oder weniger tief dunkelbraunes amorphes Pulver. Es werden 100 bis 120 cc 93prozentiger Äthylalkohol dazu gegossen, gut geschüttelt und im siedenden Wasserbade unter häufigem Umrühren ungefähr 10 Minuten zum Kochen gebracht. Man läßt dann erkalten und die Flüssigkeit wird in einem 100 cc Meßzylinder durch Papier filtriert. Der Gefäßinhalt samt dem Filter werden mit noch soviel Alkohol gut gewaschen, bis die filtrierte Gesamtfarbflüssigkeit 100 cc erreicht hat. Nachdem nun noch ungefähr 2 cc konzentrierte nicht rauchende Salzsäure[1] zugesetzt sind, wird das Filtrat in eine gut verschließbare Flasche gegossen, gut umgeschüttelt und aufbewahrt. Diese alkoholische saure dunkelrote Farblösung wird in der weiter unten angegebenen Weise zur Elastikafärbung verwandt[2].

Wir haben noch zu bemerken, daß beim Filtrieren und Waschen der alkoholischen Flüssigkeit immer ein gewisser Teil des früheren wasserunlöslichen Niederschlags auch alkoholunlöslich ist und auf dem

---

[1]) Vielleicht würde die Essigsäure ebenso gute Resultate ergeben.

[2]) Man kann sich die Mühe der Herstellung sparen und die fertige Farblösung von der Firma E. Leitz, Berlin, Luisenstr. 45, beziehen. Daselbst ist auch die Pikrin-Säurefuchsinlösung nach Benda zu haben.

Filter als ein geringes, schwarz gefärbtes Pulver übrig bleibt. Der alkohollösliche Teil, wegen seiner ausgezeichneten Färbekraft für uns der Hauptbestandteil des Niederschlags, besitzt folgende Löslichkeitsverhältnisse:

In kaltem und heißem destiliertem oder Leitungswasser, 3prozentiger Chromsäure-, gesättigter wässeriger Pikrinsäurelösung, konzentrierter Salpeter- oder Salzsäure, Liquor ferri sulfur. oxydati, 2prozentiger Kaliumkarbonatlösung, Origan-, Bergamott- und Zedernöl, Benzin, Toluol ist er vollständig unlöslich.

Schwer und nur in geringem Maße löslich in 30prozentiger Essigsäurelösung, konzentrierter Milchsäure, gesättigter wässeriger Lithionkarbonatlösung, Kreosot, Kajeputöl, Xylol.

Fast löslich in: konzentrierter Schwefelsäure, Eisessig, Ammoniak, konzentriertem Formalin, Amylalkohol, Glyzerin, Äther, Chloroform, Nelkenöl.

Gut löslich dagegen in Äthylalkohol (noch stärker in erwärmtem), Salzsäurealkohol, Methylalkohol, Aceton, Anilin.

Wir haben einmal auch eine chemische quantitative Analyse des möglichst in reinem Zustande gewonnenen alkohollöslichen Bestandteiles vom Niederschlag vorgenommen und dabei gefunden, daß er tatsächlich mehr Sauerstoff als das Orceïn enthält. Selbstverständlich müssen wir auf jede Hypothese über die Konstitution dieses Orceïnderivates verzichten, zumal wir die genaue Formel des Orceïns selbst noch nicht kennen. Nur einer einzigen Vermutung über die Struktur des letzteren Körpers möchten wir an dieser Stelle das Wort geben: das Orceïn besitzt wahrscheinlich auch eine phenolartige Zusammensetzung (wie das Orcin), bei welcher aber vielleicht die CH_3- zur COOH-Gruppe oxydiert ist und außerdem der N als NH_2-Gruppen gebunden ist, und zwar soll ein derartiges Gleichgewicht zwischen den basischen und den sauren Gruppen bestehen, daß die ersteren die sauren Gruppen annähernd ausgleichen, wodurch die eigenartige schwach saure Natur des Orceïns zustande kommen soll.

Für die Anschauung, daß das Orceïn nicht das endgültige Oxydationsprodukt darstellt und daß der oben gewonnene alkohollösliche Niederschlag wohl als eine Oxydationsstufe desselben zu betrachten ist, spricht noch folgende interessante Tatsache: Läßt man beispielsweise eine Orceïnlösung mit Karbolsäure (als Beize) längere Zeit kochen und oxydiert man nachher mit starken Oxydationsmitteln ungefähr 2 Stunden, wobei ab und zu etwas Oxydans hinzugefügt wird, dann das Gemisch gut umschüttelt und weiter kochen läßt, so resultiert hieraus

schließlich ein brauner Niederschlag, welcher ebenfalls auch teilweise alkohollöslich ist und eine gute, konzentrierte, zur Elastikafärbung geeignete Farblösung abgibt. Dieselbe ist aber nicht mehr dunkelrot wie gewöhnlich, sondern dunkelbraun, ungefähr von der Farbe einer starken Vesuvinlösung und die elastischen Fasern werden damit nicht mehr rot, sondern mehr oder weniger intensiv braun tingiert. Würde man den Oxydationsvorgang noch mehr in die Länge ziehen, z. B. auf 4 Stunden ausdehnen, so würde man endlich auch einen braunen Niederschlag erhalten, welcher ebenfalls eine braune, jedoch hellere alkoholische Lösung ergibt und die Elastika in gleicher Weise färbt, jedoch heller und schwächer. Daraus ist wohl zu ersehen, daß ein zu starker und verlängerter Oxydationsprozeß zu Oxydationsprodukten führt, welche schwächere Farbstoffe darstellen und vielleicht schließlich zu Leukoprodukten führen. Für unseren Zweck paßt also eine mittelmäßige aber sicher vorgenommene Oxydation.

Daß wir uns aber von Anfang an die Frage gestellt hatten, ob die Gegenwart irgendeiner Beize überhaupt unentbehrlich ist, versteht sich von selbst. Wird zwar der Oxydationsprozeß des Orceïns bei Abwesenheit einer solchen vorgenommen, so bekommen wir immer noch, wenn auch in geringerem Maße, einen Niederschlag, welcher auch alkohollöslich ist; diese Lösung ist aber nicht so konzentriert und nicht so intensiv dunkelrot wie sonst. Bei der damit unternommenen Schnittfärbung begegnen wir auch der Tatsache, daß die Elastika sich stärker als das übrige Gewebe tingieren läßt, bei der nachträglichen Differenzierung aber bekommt man verblaßte minderwertige Resultate dadurch, daß die elastischen Fasern lange nicht so scharf und kräftig gefärbt erscheinen, wie in dem Falle wo eine gute Beize vorhanden war. Hierdurch ist festgestellt, daß ohne Beize die elastischen Fasern dem differenzierenden Mittel keinen erheblichen Widerstand leisten.

Mit Zuhilfenahme geeigneter Beizen lassen sich aber ganz andere Resultate erzielen. Bis jetzt haben wir folgende Substanzen angewandt und nachstehende Resultate erhalten:

Mit Sublimat, Silbernitrat, Aluminiumacetat, Chromalaun, Phosphorwolframsäure, Chromsäure haben wir zwar alkohollösliche Niederschläge bekommen, welche auch starke Färbekraft, besonders für Elastika hatten, jedoch blieben dieselben bei der Differenzierung entweder farblos wie das übrige Gewebe, oder nur sehr schwach gefärbt, setzen also dem entfärbenden Differenzierungsmittel keinen merklichen Widerstand entgegen. Mit

Borax erhält man einen reichlichen Niederschlag, der aber fast gar nicht alkohollöslich ist, die alkoholische Färbeflüssigkeit ist äußerst schwach tingiert und besitzt gar keine Färbekraft.

Mit Bleiacetat, Ammoniumeisenalaun, Oxalsäure, Hydrochinon bekommt man einen mittelguten Farbstoff, die Färbung ist jedoch nicht ganz befriedigend und kann demnach keinen Anspruch auf Brauchbarkeit machen.

Mit Zinkchlorid, Alaun, Pikrinsäure, Orcin, Resorcin, Karbolsäure und Pyrogallol wurden die besten Resultate erzielt, und wir können unter diesen nicht einem einzigen den Vorzug vor dem anderen geben, welcher der allerbeste ist. Gewöhnlich haben wir meistens die mit Karbol-, Pikrinsäure und Resorcin bereiteten Farblösungen angewandt. Alle diese letzteren Farbstoffe stellen in Alkohol tief dunkelrote, intensive und konzentrierte Lösungen von sehr großer Färbekraft dar. Die elastischen Fasern erhalten damit eine tief dunkelrote Farbe, eine kleine Abweichung macht die mit Pyrogallol bereitete Farblösung, indem dieselbe die elastischen Fasern dunkelrotbraun färbt.

Was nun die Schnittfärbung anbelangt, so verfuhren wir anfangs in folgender Weise: Die Schnitte (Gefrier-, Celloïdin- oder Paraffin-) kamen aus 80prozentigem Alkohol in die konzentrierte Färbeflüssigkeit, wo die Färbung 30 bis 40 Minuten in gut zugedeckten Schalen bei Zimmertemperatur dauerte. Hierauf folgte die Differenzierung in Salzsäurealkohol so lange, bis der Schnitt fast farblos oder nur ganz schwach rosa aussah; nunmehr wurde in destilliertem Wasser[1] gut ausgespült und endlich der Nachfärbung unterzogen.

Bald haben wir jedoch dieses zeitraubende Verfahren mit dem folgenden vertauscht, welches wir nun fast ausschließlich angewandt haben: Der Färbeprozeß wird überhaupt nicht mehr bei Zimmertemperatur, sondern bei einer höheren vorgenommen, und zwar geschieht dies, indem man einige cc der Farblösung in ein etwa 50 cc fassendes Becherglas gießt und dasselbe über der Kleinstellerflamme des Bunsenbrenners vorsichtig, bis Dämpfe entstehen, erwärmt. Wesentlich hierbei ist, daß die Temperatur der Farblösung nicht zu stark steigt. Aus diesem Grunde muß man möglichst oft die Erwärmung unterbrechen und sich durch Betastung des Becherbodens überzeugen, ob die Temperatur nicht zu hoch gestiegen ist.

[1]) Leitungswasser ist stets wegen seines Alkaligehaltes bei diesem Verfahren zu vermeiden.

Das Erwärmen darf eben nur bis zu dem Grade vorgenommen werden, daß die Finger die Hitze kaum noch ertragen, ein solches Erwärmen ist vollkommen genügend und schadet auch den Schnitten keineswegs.

Wegen der Feuergefährlichkeit des Alkohols und hauptsächlich um ein zu starkes Verdunsten zu verhüten und damit auch die Farblösung nicht allzusehr konzentriert wird, machten wir von einem besonders konstruierten Becherglas Gebrauch, welches in nebenstehender Figur abgebildet ist. Der Becher, dessen innerer Rand eingeschliffen ist und mit einem trichterförmigen, oben offenen Deckel verschlossen werden kann, verhindert die Verdunstung und schließt auch die Feuersgefahr ganz aus. Das einfache Zudecken des Becherglases mit einem Uhrgläschen genügt jedoch auch.



Es ist sehr ratsam, während des Erhitzens die Farblösung leicht umzuschütteln, damit die Schnitte, welche die Neigung haben sich zu Boden zu senken, nicht ständig mit dem eventuell zu stark erhitzten Boden in Berührung kommen und dadurch etwa geschädigt werden, es wird auch durch das Umschütteln die Temperatur der Lösung gleichmäßiger verteilt.

Die Färbung ist nun aber verschieden, je nachdem man mit Gefrier- oder mit Celloïdin- resp. Paraffinschnitten zu tun hat.

Was zuerst die Gefrierschnitte betrifft, so werden dieselben aus 80prozentigem Alkohol entweder in der halbverdünnten Färbeflüssigkeit eine bis 2 Minuten oder in der auf $^1/_4$ verdünnten[1] 3 bis 4 Minuten unter andauerndem Erwärmen gefärbt und dann in die Differenzierungsflüssigkeit gebracht.

Die Celloïdin- und Paraffinschnitte erfordern längere Zeit zur Färbung; die Farbflüssigkeit darf dabei nicht verdünnt werden. Die aufs Deckglas aufgeklebten Paraffinschnitte sind selbstverständlich vorher vom Paraffin befreit worden und kommen aus 80prozentigem Alkohol, mit dem Schnitt nach oben, in die Farbflüssigkeit. Die Färbedauer beträgt unter Erwärmen 10 bis 15 Minuten. Man vermeide in jedem Falle starke Überfärbung, sonst nimmt die Differenzierung zu viel Zeit in Anspruch.

---

[1]) Die Verdünnung wird mit Salzsäurealkohol vorgenommen.

Gleich nach beendeter Färbung werden die Schnitte herausgenommen und differenziert. Die Differenzierung geschieht gewöhnlich langsam in dem üblichen einprozentigen Salzsäurealkohol, so daß sich jeder gewünschte Grad erreichen läßt. Soll die Differenzierung schneller vor sich gehen, so wende man 2prozentigen Salzsäure-Alkohol oder gewöhnlichen Salzsäure-Alkohol mit einem gewissen (10- bis 30prozentigen) Acetonzusatz an, welcher die Differenzierungskraft des Salzsäurealkohols bedeutend erhöht. Nur bei Celloïdinschnitten vermeide man Acetongemische, da das Celloïdin durch Aceton sofort gelöst wird. Man lasse deshalb überhaupt die nötige Vorsicht bei Anwendung solcher starken Mittel nicht außer acht.

Auf jeden Fall muß von Zeit zu Zeit die Differenzierung unter dem Mikroskop überwacht werden, um festzustellen, wie weit dieselbe fortgeschritten ist; sobald der Grund ein fast farbloses oder ein nur noch blaßrosa Aussehen erhält, muß die Differenzierung unterbrochen und der Schnitt in Wasser gebracht werden. Man übersehe bei der mikroskopischen Betrachtung auch nicht die feineren elastischen Fasern; sobald dieselben etwa abzublassen beginnen, ist die Differenzierung sofort einzustellen. Es ist zweckmäßig, die Differenzierungsflüssigkeit 2- bis 3mal zu erneuern. Das Übertragen der Schnitte für kurze Zeit in Wasser und dann wieder in HCl-Alkohol, wobei heftige Diffusionsströmungen entstehen, beschleunigt die Differenzierung. Es ist uns aufgefallen, daß, wenn die Schnitte vor der Färbung in Alkohol mit einer Spur Pikrinsäure verweilt haben und dann dem ersten Differenzierungsbad wenige Tropfen einer Pikrinsäurelösung zugesetzt worden sind, die Färbung der elastischen Fasern noch schärfer und fester wird. Wir erklären uns diese Beobachtung dadurch, daß die Pikrinsäure, welche in alle Gewebe gut eindringt und speziell die elastischen Fasern permeabler für die Färbung gemacht hat und dieselben sogar färbt, vielleicht eine festere Verbindung zwischen den elastischen Fasern und dem färbenden Mittel verursacht.

Die gut differenzierten Schnitte kommen jetzt in destilliertes Wasser, um weiter behandelt zu werden. Hier erscheinen die elastischen Fasern intensiv dunkelrot tingiert bis in ihre feinsten Verzweigungen. Es wurden stets von denselben Schnitten Präparate nach Weigert und nach Tänzer-Unna gemacht, um dieselben vergleichen und kontrollieren zu können.

Da das Erwärmen bei der Elastikafärbung nach unserem Verfahren so gute Resultate gab, haben wir dieselbe auch beim Weigertschen Verfahren angewandt, was unseres Wissens bis jetzt noch

von keinem Autor versucht wurde und erhielten wir auch mit diesem die besten Resultate; es färben sich die elastischen Fasern in der Wärme in wenigen Minuten ebensogut wie in einer halben Stunde bei Zimmertemperatur. Die Färbung wird ungefähr in derselben Weise, wie oben bereits beschrieben, vorgenommen.

Wir wollen noch einen Vorteil unseres Elastikaverfahrens nicht unerwähnt lassen. Während die gewöhnliche Elastikafärbung mit Orceïn nach Tänzer-Unna bei Celloïdinschnitten nicht leicht gelingt und bisweilen nur verwaschene Färbungen erzielt werden, färbt sich dagegen bei unserem Verfahren die Elastika in Celloïdinschnitten sehr scharf.

Aus destilliertem Wasser kommen die Schnitte zum Nachfärben entweder in Böhmers Hämatoxylin oder werden mit Eisenhämatoxylin nach Benda oder Heidenhain oder mit Toluidinblau oder endlich mit Kernschwarz nachbehandelt. Der violette Ton des Böhmerschen Hämatoxylins läßt sich durch Ausspülen des Schnittes während einer Minute in destilliertem Wasser, dem eine Spur Pikrinsäure zugesetzt ist, in schwarz umwandeln, wodurch das Präparat kontrastreicher wird, dies ist aber durchaus nicht nötig.

Für die Eisenhämatoxylinfärbung werden die Schnitte je 15 Minuten in der Beize und in der Hämatoxylinlösung gelassen. Das Verweilen in der Beize ist der Elastikafärbung nicht schädlich.

Bei Toluidinblaunachfärbung ist das Einschließen in neutralem Kanadabalsam unbedingt notwendig, da das Präparat sonst nach kurzer Zeit blaß wird.

Bei Kernschwarznachfärbung mit auf $^1/_{10}$ verdünnter käuflicher Kernschwarzlösung färbt man bis eine leichte Überfärbnng eintritt, worauf in destilliertem Wasser mit einer Spur Essigsäure vorsichtig differenziert wird. Es lassen sich hiermit sehr gute Präparate herstellen.

Das Wesentliche dabei ist, der Elastikafärbung eine möglichst stark kontrastierende, nicht zu intensive Nachfärbung folgen zu lassen, damit sich die elastischen Fasern bis in ihre feinsten Äste deutlich unterscheiden. Es wäre aber ganz verfehlt die Orceïnfärbung der Elastika etwa mit einer Karmin-, van Gieson- oder Eosinfärbung zu kombinieren, wie es von einigen Seiten empfohlen worden ist. Solche Färbungen haben den Nachteil, daß durch Hinzufügen einer zweiten, ebenfalls roten Färbung, auch wenn die Nuance der letzteren eine andere ist, die Präparate undeutlich werden. Ebenso unberechtigt wäre eine Kombination der Weigertschen Elastika mit Hämatoxylin-

oder Fibrinfärbung. Das Kombinieren der Elastika- mit van Giesonscher Färbung ohne Hämatoxylin erzeugt, durch das Fehlen der Kerne, unklare, sehr schlechte, sogar häßliche Präparate; das Präparat macht einen leblosen Eindruck.

Man kann wohl allgemein erklären, daß Polyfärbungen an einem und demselben Präparate nur mit Vorsicht anzuwenden sind oder besser davon abzusehen. Ein Präparat kann gewöhnlich nur eine Sache gut zur Darstellung bringen, zwei kontrastierende Färbungen genügen vollkommen, drei sind zu vermeiden oder höchstens ausnahmsweise und nur für bestimmte Zwecke anzuwenden.

Wir waren nun geneigt, so wie B. Fischer für den Weigertschen Elastikafarbstoff durch die hinzugefügte Silbe -el- an den Farbstoff einen passenden Namen vorgeschlagen hat, unseren Elastikafarbstoff Orcelin zu benennen, mußten aber davon Abstand nehmen, weil dieser Name in der chemischen Literatur für eine bestimmte Kombination des Orceïns schon verliehen ist. Andererseits scheint uns unzweckmäßig, Benennungen wie Ferrifuchsin, Ferriresorcin einer Substanz zu verleihen, welche nur ein Oxydationsprodukt darstellt, ohne eine Spur Eisen zu enthalten. Wir möchten unseren Farbstoff etwa Oxyorceïn nennen, schließlich kommt es aber auf die Benennung am wenigsten an.

Das Orceïn, welches trotz der starken Konkurrenz der Azofarbstoffe heute noch sehr viel, insbesondere für die Seiden- und Wollenfärberei, Verwendung findet, fixiert sich auf dieselben in schwach saurem Bade unter Mitwirkung verschiedener Beizstoffe (Alaun, Oxalsäure usw.) und verleiht eine mehr oder weniger blaustichige rote Farbe.

Wir haben einige Färbungsversuche auch mit unserem Oxyorceïn auf verschiedene Textilfasern unternommen und dabei folgendes gefunden: Bei Färbung während mehrerer Stunden (über Nacht) und dann 24 Stunden Waschen in destilliertem Wasser färbt sich Seide am besten, Hanf ziemlich gut, Wolle blasser aber schön, Zwirn und Baumwolle ziemlich blaß, die Nuance ist immer eine rote mit blauem Stich.

Läßt man der Färbung eine Beizung in Ferrichloridlösung vorangehen, dann nimmt die Färbung einen rotbraunen Charakter an, die Seide ist immerhin die am besten gefärbte, Hanffasern fast ebensogut, dann Wolle ziemlich gut, Zwirn und Baumwolle aber blaß.

Dem Herrn Professor C. Benda für das unserer Arbeit entgegengebrachte rege Interesse möchten wir an dieser Stelle verbindlichst danken.

Literatur.

Fischer, B., Über Chemismus und Technik der Weigertschen Elastinfärbung (Virchows Arch. Bd. CLXX, 1902).

Goldmann, E., Anatomische Untersuchungen über die Verbreitungsweise bösartiger Geschwülste (Bruns' Beiträge zur klin. Chirurgie 1897).

Israel, O., Über Doppelfärbung mit Orceïn (Virchows Arch. Bd. CV, 1886).

Klett, A., Zur Chemie der Weigertschen Elastikafärbung (Zeitschr. f. experim. Pathologie u. Therapie Bd. II, 1906).

Krzysztalowicz, F., Inwieweit vermögen alle bisher angegebenen spezifischen Färbungen des Elastins auch Elacin zu färben? (Monatsh. f. prakt. Dermatol. Bd. XXX, 1900).

Michaelis, L., Über den Chemismus der Elastinfärbung und seine praktische Anwendung auf Sputumpräparate (Deutsche med. Wochenschr. 1901).

Unna, P. G., Elastin und Elacin (Monatsh. f. prakt. Dermatol. Bd. XIX, 1894).

Weigert, C., Über eine Methode zur Färbung elastischer Fasern (Zentralbl. f. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. Bd. IX, 1898).

Berichte d. deutsch. chem. Gesellschaft.

Beilsteins Ergänzungsbände.

Bolles Lee et Henneguy, F., Méthodes techniques de l'anatomie microscopique 1902.

Enzyklopädie d. mikrosk. Technik 1903.

Nietzki, R., Chemie der organischen Farbstoffe 1906.

Pappenheim, A., Grundriß der Farbchemie 1901.

Unna, P. G., Histopathologie der Haut 1894.

[Eingegangen am 1. April 1909.]

Die Färbung der Pikrinsäure auf Seide.

Eine Erscheinung der Osmose, wobei die Haut des Seidenfadens als tierische Membran wirkt.

Farbenchemische Betrachtungen unter Berücksichtigung der Bakterienfärbung.

Von

E. O. Sommerhoff.

Reibt man entwässertes, bläulich weißes Kupfersulfat oder vollständig getrocknete, gelblich weiße Pikrinsäure in eine Schneefläche ein, so wird man, indem der Schnee etwas schmilzt, sehr schön die stark farbenverstärkende Wirkung des Wassers auf das Kupfersulfat oder die Pikrinsäure beobachten können.

Es ist dies theoretisch teilweise dadurch zu erklären, daß Wasser die Wittsche auxochrome (farbenverstärkende) OH-Gruppe enthält[1]. Beim Wasser, welches ja nur aus drei Atomen besteht, fällt die elektrolytische und farbenchemische Atomgruppe (OH) vollständig zusammen, während dies beim Ammoniumhydroxyd (HO, NH_2) schon nicht mehr der Fall ist. Das scheinbare Zusammenfallen der elektrolytischen Dissoziationsgruppe mit der auxochromen OH-Gruppe beim Wasser hat zu einer großen Anzahl für die praktische Farbenchemie vorläufig wertloser Arbeiten geführt.

Kupfersulfat bildet bekanntlich mit Wasser eine außerordentlich stabile Molekularaddition, während die Addition von Wasser an die Pikrinsäure eine außerordentlich labile ist und nur farbenchemisch wahrgenommen werden kann und in der Analogie zu der bekannten Verbindung Pikrinsäure + Phenol ihren Stützpunkt finden könnte. Man kann annehmen, daß Pikrinsäure in Wasser schwach hydratisiert

---

[1] Ob die OH-Gruppe im Wasser farbeverstärkend wirkt oder nicht, hängt noch sehr wesentlich von der Art und Weise ab, in welcher es an das Chromogen (C_6, Cu) gebunden wird.

ist ($C_6H_2[NO_3]_3OH \ldots OH_2$) (vgl. Armstrong, Differentialmembranen, Chlornatriumlösung $NaCl <^{H}_{OH}$, Chem. Zeitg. 1909, p. 193).

In einer Pikrinsäurelösung haben wir, neben den Pikrinjonen und Wasserstoffjonen, auch die nicht elektrolytisch dissoziierte gelbe Pikrinsäure, welche letztere als richtiges Kristalloïd sich leicht durch eine vegetabilische Membran (das poröse Filtrierpapier) in eine Porzellanschale filtrieren läßt. Beobachten wir nun das Verhalten der Pikrinsäure einer tierischen Membran (z. B. einer Haut) gegenüber, indem wir die Pikrinsäurelösung in eine sehr dünne Schweinsblase (Präservativ) bringen und auf weißes Filtrierpapier legen. Die Pikrinsäure wird auch hier durch die tierische Membran als richtiges Kristalloïd hindurchdiffundieren, aber dabei die Membran bleibend gelb färben.

Wir füllen nun eine weitere Schweinsblase mit etwas angefeuchtetem Leim (Gelatine) und seifen die Schweinsblase von außen sorgfältig lauwarm ab, um sie von anhaftendem Fett, Leim usw. zu befreien. Wir binden nun das Präservativ am oberen Ende zu, nachdem wir zuerst die Luft aus der Blase möglichst vollständig herausgepreßt hatten. Wir bringen das mit Gelatine gefüllte Präservativ in ein Färbebad mit Pikrinsäurelösung. Beim Erwärmen beobachten wir zuerst, wie das Wasser durch die Membran hindurchdringt und die Gelatine in einen kolloïdalen Quellzustand versetzt. Pressen wir aus der Blase die Luft durch sehr vorsichtiges Ausringen immer wieder aus, so wird allmählich auch die Pikrinsäure als Kristalloïd durch die Membran hindurchdiffundieren und den Leim gelb färben. Hierbei wird sich vermutlich die bekannte amorphe Molekularaddition Pikrinsäure + Leim (pikrinsaurer Leim) bilden, welche sich im Überschuß des einen Reagenzes, d. h. des Leimes unzersetzt auflöst.

Bei dieser Versuchsanordnung stellte sich praktisch aber ein großer Übelstand heraus, indem beim stärkeren Erwärmen die dünne Schweinsblase eine große Neigung zum Verleimen zeigte. Ich konnte diesen Übelstand dadurch aufheben, daß ich dem Färbebad selbst größere Mengen von Leim zufügte und in einem derartigen Bad das Präservativ unversehrt erwärmen konnte.

Nach dem Färben wusch ich das Präservativ von außen sorgfältig mit kaltem Wasser ab und hängte es mit der Gelatinelösung zum Trocknen. Nach einem Tage konnte ich beobachten, wie sich die klargelbe Gelatinelösung im Präservativ leicht trübte, indem sich

wahrscheinlich die amorphe Molekularaddition Pikrinsäure + Leim in sehr feiner Suspension ausschied. Pikrinsäure ist ein kolloïdales Gift. Um diese gleichsam übersättigte Pikrinsäuregelatinelösung wieder zu klären (zu entgiften), brachte ich das Präservativ in eine Schale, in welcher sich angesäuertes Wasser befand und erwärmte. Zur Schonung der tierischen Membranhaut setzte ich dem Wasser noch ein typisches Hautöl (man verwendet Olivenöl, das durch Erwärmen mit verdünnter Schwefelsäure in feine Emulsion gebracht worden war) zu. Man kann diesen Prozeß als „Avivierung" bezeichnen.

Jedem, der die Seidenfärberei aus der Fabrikpraxis kennt, wird ohne weiteres klar sein, daß wir auf diese Weise die Seidenfärberei im Fabrikbetriebe theoretisch und experimentell anschaulich erläutert haben.

Der vorsichtig entbastete Seidenfaden besteht aus einer Haut, die wohl hauptsächlich Fibroin enthält und mit Sericin (Seidenleim) gefüllt ist. Auf Zusatz von Wasser quillt besonders das Sericin stark auf (kolloïdaler Quellzustand), und die Pikrinsäure wird als richtiges Kristalloïd durch die Fibroinhaut des Seidenfadens hindurchdiffundieren und die konzentrierte Seidenleimlösung ebenfalls anfärben. Der Laboratoriumschemiker begnügt sich meist damit, die Haut des Seidenfadens anzufärben und durch ungeschickte Manipulation sämtlichen Seidenleim aus dem Seidenfaden herauszukochen. Nun auf dem Gebiete der Färbetheorie weiter zu kommen, müssen wir vor allem die physikalische Struktur des gefärbten Gewebes (die Zellstruktur) bei unseren mehr praktischen Betrachtungen unverändert lassen und nie vergessen, daß die in den Handel kommenden Seidengewebe stets Seidenleim enthalten.

Wiederholt man die von mir angegebenen Leimexperimente, so sieht man auch ein, warum die Seidenfärber die Seide schön anfärben, indem infolge der Membranwirkung bei richtiger Manipulation die Seide gerade inwendig sehr stark angefärbt wird (die Seide ist durchscheinend metallisch glänzend gefärbt), während die vom Laboratoriumschemiker angefärbte Seide meist nur äußerlich (d. h. die Seidenhaut) angefärbt ist und einen trüben Eindruck macht.

Ich erwähnte schon, daß das Wasser die Eigenschaft hat die Seidenfaden in den kolloïdalen Quellzustand (gequellten Seidenleim umgeben von einer tierischen Fibroinmembran) zu versetzen und erst dadurch die Seide befähigt sich anzufärben. Die Seide verhält sich Anilinfarben gegenüber in wässeriger Lösung genau wie lebende Bakterien (kolloïdaler oder „avivierter" Zustand des Seidenfadens).

In allen anderen Lösungsmitteln (absol. Alkohol, Äther, Benzol) verhält sich Seide Anilinfarben gegenüber genau wie sich tote Bakterien verhalten, indem sie sich nicht anfärben läßt (amorpher oder toter Zustand des Seidenfadens).

[Eingegangen am 2. März 1909.]

Fehlergröße einiger Fixierungsmethoden und Quellung einer Algenmembran.

Von

Dr. Friedrich Tobler,

Privatdozent an der Universität in Münster i. W.

Die weitgehenden Untersuchungen Bergs über die Fehlergröße bei den histologischen Methoden[1] veranlassen mich, gewisse Beobachtungen zu veröffentlichen, die ich im Jahre 1903 und in der Folgezeit angestellt habe, die freilich sehr spezialisiert und bei weitem nicht so exakt wie die des Genannten sind, die aber gerade aus einem ganz anderen Gebiete als typisches Beispiel ähnlicher Vorkommnisse dienen können.

Mein Ausgangspunkt war folgender. Ich wünschte von einem Aufenthalt in Neapel, für mich oder andere, Material von den jüngsten Sproßteilen der Rotalge Polysiphonia mitzunehmen, bei der die Art der Blatt- resp. Sproßentwicklung Interesse bietet. Es handelt sich dabei insbesondere um die Frage, ob die jungen unterhalb des Scheitels sich hervorwölbenden Anlagen gewissen Berührungen unter sich oder mit der Achse ausgesetzt sind, von denen ihre Stellung beeinflußt gedacht werden kann. Die Frage ist von verschiedener Seite bald in dem einen, bald in dem anderen Sinne behandelt und beantwortet worden[2]. Von einer Seite ist nun auch eine eingehende

---

[1]) Berg, W., Die Fehlergröße bei den histologischen Methoden. Berlin 1908. Vorläufige Mitteilung im Anat. Anzeiger Bd. XXXI, H. 9, 10.

[2]) Schwendener, Monatsber. d. Kgl. Akad. d. Wiss. zu Berlin, April 1880; Rosenvinge, Botan. Tidskrift Bd. XIV, 1884, p. 11; Seckt, Beihefte z. botan. Zentralbl. Bd. X, 1901.

cytologische Untersuchung für diese Frage ausgeführt und verwertet worden[1]. Sollten deshalb weitere derartige Beobachtungen gemacht werden, so mußte fixiertes Material so bewahrt werden können, daß es für die rein morphologische Betrachtung gleich fehlerfrei zu brauchen war, wie für die komplizierteren Kernuntersuchungen mit der dazu nötigen Färbung und Einbettung.

Ich suchte planmäßig mir Material von Polysiphoniastammspitzen in der denkbar günstigsten Weise zu konservieren. Die in verschiedenster Art fixierten und weiter behandelten Objekte wurden gleich nach diesen Prozeduren und nach Verlauf verschiedener Zeiten auf ihre Beschaffenheit für morphologische Betrachtung hin geprüft. Ich glaubte mich nach den ersten Versuchen sofort dazu berechtigt, diese leichter als das Verhalten nach der Färbung usw. zu prüfende Eigenschaft in erster Linie ins Auge zu fassen, weil ich eine Veränderung der Membrandicke so außerordentlich leicht sich einstellen sah. Die Quellungsfähigkeit der Wände ist, wie die näheren Angaben zeigen werden, eine so erhebliche, daß dadurch die oben bezeichneten Kontaktverhältnisse sicher beeinflußt werden. Schon wenn die Größen der Quellungen in einem engen Umkreis um eine Sproß- oder Blattanlage im jugendlichsten Zustande annähernd gleich wären, müßte die Quellung für den über der Anlage liegenden spitzen Winkel zwischen Achse und Sproß eine Zunahme bedeuten, womit eine Abspreizung des Sprosses von der Achse verbunden wäre. Tatsächlich sprechen viele Anzeichen dafür, daß die Quellung in jenem Bezirk verschiedene Größen, und zwar im Winkel selbst eine besonders bedeutende besitzt. Findet man doch bisweilen nach eingetretener Quellung an diesen Stellen im Winkel eine Art Falte oder Knopf aus Membransubstanz. Sowie übrigens solche Ungleichmäßigkeiten in der Quellbarkeit der Membran an verschiedenen Stellen zugegeben werden, kann selbstverständlich auch der Ausschlag an dem eben beschriebenen Punkte in anderen Fällen anders gerichtet sein, d. h. ein etwa vorhandener Kontakt könnte aufgehoben werden durch die Quellung oder ihr Gegenteil, die in gewissen Medien eintretende Schrumpfung. Es soll hier kein Für oder Wider betreffs der berührten Kontroverse, sondern nur die geringe Bewertung solchen Materiales ausgesprochen sein.

Material mit einer Andeutung solcher Veränderungen ist von vornherein nicht zu gebrauchen. Wir werden sehen, daß es einen

[1]) Rosenvinge, Botan. Tidskrift Bd. X, 1888, p. 1.

befriedigenden Ausweg aus dieser Schwierigkeit nicht gibt. Aber abgesehen davon, verdienen die graduellen Verschiedenheiten zwischen den dabei durchgeprobten Mitteln und Verfahren ein Interesse, weil sie erstens für die Kenntnis der Membranbeschaffenheit dienen und zweitens, weil man aus den Abstufungen der Fehlergrößen Schlüsse auf die Verwendbarkeit bei weniger empfindlichen Objekten machen kann.

Zahlenmäßig belegen werde ich dabei nur einige Fälle als Beispiele, besonders für extremes Verhalten, um so die maximale Quellung und die Verschiedenheiten zwischen verschiedenen Stellen des Objektes exakt zum Ausdruck zu bringen.

Daß die Unterschiede im Resultate bei Verwendung von destilliertem, Leitungs- oder Seewasser nicht neu sind, ist mir bekannt, dennoch ist der Vergleich der Lösungen wohl auch hier für das Objekt lohnend. Als Fixiermittel wurden folgende Lösungen verwendet:

1) Jod in Seewasser, hergestellt durch Zusatz alkoholischer Jodlösung zum Wasser, bis hellbraune Färbung vorhanden. (Berthold, Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XIII, 1882, p. 704.)

2) Merkelsche Lösung, bestehend aus gleichen Teilen von zwei Lösungen, deren eine Platinchlorid in Wasser = 1 : 400, deren andere Chromsäure in Wasser = 1 : 400 enthält. Mit destilliertem Wasser oder Seewasser hergestellt. (Böhm u. Oppel, Taschenbuch der mikroskopischen Technik 1900, p. 199.)

3) Flemmingsche Lösung, schwach, bestehend aus 0·25 Prozent Chromsäure, 0·1 Prozent Osmiumsäure und 0·1 Prozent Essigsäure, mit Süß- oder Seewasser hergestellt. (Strasburger, Botan. Praktikum, 3. Aufl., 1897, p. 50.)

4) 40 Prozent Formaldehydlösung („Formol“) mit destilliertem Wasser, Süß- oder Seewasser verdünnt in verschiedenen Mengenverhältnissen.

5) Konzentrierte Pikrinsäurelösung in 50prozentigem Alkohol. (Strasburger, a. a. O., p. 347.)

* * *

I. Jodseewasser. Das von Berthold angegebene Verfahren speziell zur Fixierung von Meeresalgen besteht darin, daß die Objekte nur eine Minute in der Lösung geschwenkt und dann in 50prozentigem Alkohol mehrfach ausgewaschen werden. Die bräunliche Färbung

vom Jod verliert sich nach einigen Minuten. Daß in der Tat die Wahl des mittleren Alkohols das Empfehlenswerteste ist, das leuchtet aus folgender Reihe ein: In Jodmeerwasser, wie angegeben, fixierte Objekte gelangten in gewöhnlichen 25prozentigen Alkohol und zeigten Quellung der Wände auf etwa das Vierfache, in 45prozentigen Alkohol auf etwa das Doppelte, von 70 Prozent an war eine leichte Schrumpfung wahrzunehmen. Das beste Resultat ergibt 45- bis 50-prozentiger Alkohol, der statt destilliertem Wasser Seewasser enthält. Dies alles bei sofortiger Beobachtung, bei längerem Liegen gestaltet sich das Resultat folgendermaßen. Nach 2 Stunden in:

1) Alkohol abs.: Aq. dest. 1:1 erheblich gequ., Kontur scharf.
2) „ „ : Leitungsw. 1:1 deutlich „ „ deutlicher als gewöhnlich.
3) „ „ : Seewasser 1:1 völlig normal.

Dasselbe nach 24 Stunden:

1) u. 2) unverändert, 3) Quellung vorhanden! Das Material 3) blieb auch nach 10 Tagen auf diesem Zustand stehen.

Übrigens läßt die länger als eine Minute dauernde Fixierung in Jodmeerwasser sich sofort an einer Quellung erkennen, die je nach Einwirkung beträchtliche Dimensionen erreichen kann.

II. Merkelsche Lösung. Es kommt für uns nur eine Fixierdauer, wie etwa für die Flemmingsche Lösung üblich, in Frage, also bei diesem sehr zarten Objekte von etwa einer Stunde. Man pflegt dem Gebrauch dieser Lösung ein Auswaschen in fließendem Wasser folgen zu lassen. Es empfahl sich von vornherein die Lösung in Seewasser anzuwenden und dementsprechend hatte auch das Ausspülen in fließendem Seewasser zu erfolgen. Zur weiteren Aufbewahrung mußte aber versucht werden, die Objekte in alkoholisches Medium zu überführen. Trotz des vorsichtigen Auswaschens war hier wieder der Übergang zum Alkohol mit Quellung der Wand gleichbedeutend. Es zeigt sich das in folgendem Beispiel:

Fixierung eine Stunde in Merkel, ausgew. 20 Stunden in fließendem Seewasser, übertr. in 10proz. Alkohol (mit Seew.) Quellung unverkennbar, Farbe gut. — Besser war dann schon direkte Übertragung aus der Merkelschen Lösung in Alkohol + Seewasser (1:1), aber nicht so bleibend!

Bei diesen Versuchen zeigte sich zum erstenmal ein Unterschied zwischen den älteren und jüngeren Teilen der Pflanzen. Waren die älteren teilweise noch ganz gut ausgefallen, weder gequollen,

noch geschrumpft, so waren die jüngeren völlig unbrauchbar durch Quellung, sowie bei MERKEL auch durch Kristallbildungen, die sich bei längerer Einwirkung noch reichlicher abschieden, doch schon bei einstündiger Dauer der Fixierung nicht fehlten.

Schon deshalb war das Auswaschen in Wasser unentbehrlich. Im allgemeinen waren bei Überführung in Alkohol die älteren Teile eher der Schrumpfung, die jüngeren der Quellung ausgesetzt. Hierzu sei bemerkt, daß die Länge der ganz verwendeten Stücke der Alge nicht mehr betrug, als zum Anfassen mit der Pinzette für die Übertragung eben nötig war.

III. FLEMMINGsche Lösung. Die Resultate sind hinsichtlich der Quellung ungefähr dieselben wie bei der MERKELschen Lösung. Auch hier wurde in fließendem Seewasser ausgespült, und die Übertragung geschah in Alkohol + Seewasser, besser als mit Süßwasser, bei einer Konzentration von etwa 20 Prozent wurde ein anfangs leidliches, später sich verschlechterndes Resultat erzielt. Hier wurde auch eine stufenweise Überführung bis herauf in Alkohol mit Seewasser 4:1 vorgenommen, ohne daß zunächst die jüngeren Teile sich allzu sehr verändert zeigten, die etwas älteren dagegen waren beträchtlich geschrumpft.

IV. Formol. Eine Überführung in Waschflüssigkeiten ist hierbei unnötig, die Aufbewahrung erfolgt in der Lösung selbst. Die Beobachtung der folgenden Versuchsreihe geschah nach 3 bis 4 Stunden dauernder Einwirkung. Da zu den angeführten und seine Benutzung veranlassenden Vorzügen der Formollösungen auch die Erhaltung der natürlichen Färbung gehört, so ist darauf zugleich mit Rücksicht genommen worden. (Im folgenden bezeichnet das am Anfang jedes Versuches stehende Verhältnis F : W den Gehalt Formol zu Wasser.)

Reihe a mit destilliertem Wasser:

1) F : W = 1 : 20 Quellung auf das Drei- bis Vierfache, Farbe schlecht.
2) F : W = 1 : 10 Quellung auf das Zwei- bis Dreifache, Farbe schlecht.
3) F : W = 1 : 4 Quellung etwa auf das Doppelte, Farbe schlecht.

Reihe b mit Leitungswasser:

4) F : W = 1 : 20 mäßig gequollen, Farbe schlecht.
5) F : W = 1 : 10 Quellung vorhanden, Konturen unnatürlich scharf, Farbe leidlich.
6) F : W = 1 : 4 Quellung gering, Farbe leidlich.

Reihe c mit Seewasser:

7) F : W = 1 : 20 keine Quellung, Farbe gut.
8) F : W = 1 : 10 wenig gequollen, Farbe gut.
9) F : W = 1 : 3 gequollen, Farbe gut.

War hier in 6 Stunden noch keine Veränderung zu bemerken, so stellte sich diese aber doch nach etwa 2 Tagen ein.

Auch Formol-Seewasser 1:20 läßt an sich quellen[1]. Ebenso war die Farbe schon nach 24 Stunden nicht mehr die natürliche. Ging man übrigens von Formol-Seewasser 1 : 10 aus, so war die Quellung noch früher und stärker vorhanden. Es wurde deshalb versucht, das in Formollösung nur fixierte Objekt in ein alkoholisches Medium zu übertragen. So hatte übrigens auch der erste Benutzer des Formaldehyds in der Mikrotechnik gearbeitet, Blum, der seine tierischen Objekte (auch Mikroorganismen) in Formol fixierte, härtete, um sie dann zur Einbettung zu entwässern (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. X, 1893, p. 315). Abgesehen von der Entfärbung erwies sich die Wirkung des Alkohols aber hier immer noch als nachteilig bemerkbar, wenngleich nicht so wie die Lösung des Formols an sich. Es wurde auch versucht, die aus dem Formol entnommenen Objekte erst in Seewasser abzuspülen und sie dann in Alkohol + Seewasser zu übertragen.

Dies gab etwas bessere Erfolge, z. B. Formol : Seewasser = 1 : 20 wirkt eine Stunde, danach Abspülen in Seewasser und Übertragen in Alkohol + Seewasser 1 : 9. Es tritt momentan geringe Quellung ein.

Die Quellung ist stärker 1) bei längerem vorhergehenden Aufenthalt im Formol, 2) bei direkter Übertragung in Alkohol + Seewasser und 3) bei Übertragung in stärkeren Alkohol[2].

V. Die oben genannte Pikrinsäurelösung würde schon nach diesen Resultaten als besonders vorteilhaft erscheinen, weil sie zu gleichen Teilen Alkohol und Wasser (natürlich Seewasser) enthält. Aber es gilt hier wie in allen Fällen, wo Alkohol + See-

[1]) Übrigens haben dies schon Lee u. Mayer (Grundzüge der mikroskopischen Technik für Zoologen und Anatomen, 2. Aufl., 1901, p. 64) angegeben. Auch sie ziehen die Formollösung mit Seewasser vor. Von der bei ihnen angegebenen heißen Anwendung kann bei unseren Objekten nicht die Rede sein.

[2]) Lee u. Mayer (l. c.) lassen die Objekte aus 2- bis 4prozentigen Formaldehydlösungen direkt in 70prozentigen oder gar 95prozentigen Alkohol gelangen.

wasser = 1 : 1 eine Rolle spielten, nach einiger Zeit tritt doch Quellung ein.

* * *

Die Zahlenangaben, die ich noch hinzufügen will, bedürfen einer Erläuterung in betreff der Methode ihrer Gewinnung. Ich habe bei allen Versuchen, die ich angeführt habe, so schnell wie möglich die Stadien und die Verschiedenheiten der Quellung an den Polysiphoniascheiteln festhalten wollen. Ich habe es als das leichteste und zugleich korrekteste erfunden, jeweils die Objekte bei einer Vergrößerung von 550mal mit dem Zeichenokular aufzunehmen, und zwar, um Verschiedenheiten der Einstellung auszuschließen, jedes Objekt dreimal nacheinander, außerdem aus jedem Versuch mehrere Objekte. Diese Zeichnungen, die ein dauerhaftes Belegmaterial boten, wurden ergänzt durch Okularmessungen. Nach den letzteren habe ich die meisten Resultate in den Tabellen vorn ausgedrückt, nach jenen aber wurden die folgenden Prozentzahlen hergestellt. Genügend feine und mit hartem, spitzem Stift hergestellte Zeichnungen gestatten es nämlich, daß man mit einem Zirkel (dessen Spitzen im Mikroskop als gleich lang und unverbogen kontrolliert sind) die Wanddicke abmißt. Die Zirkelspannungen lassen sich dann durch Auflegen auf einen feinen Glasmaßstab[1] bei schwacher Vergrößerung im Mikroskop gut ausmessen und vergleichen ohne Berechnung der Vergrößerung und des Maßstabwertes.

Die durchschnittliche Wanddicke im frischen Zustande wurde vor jedem Versuche wieder geprüft. Alle Objekte waren sehr übereinstimmend, und zwar war die Wanddicke gleich an verschiedenen Stellen, z. B. der obersten Spitze der einfachen Zellreihe des jungen Sproßendes, an Seitenwänden der zweiten und folgenden Zellen, den Spitzen nur schwach hervorgewölbter Seitensproßanlagen (Blattanlagen) oder wieder — bei weiterer Entwicklung dieser Gebilde — an deren Seiten.

Bei Verwendung von Jodseewasser zeigten[2] nach einer Minute die Spitze Quellung von 23 Prozent, die Seiten (zweite, dritte Zelle) 35 Prozent, einzelne Seitenstellen bis zu 141 Prozent, nach 2 bis

---

[1]) Da ein Objektmikrometer zu fein zu sein pflegt, benutze ich mit Erfolg das Mikrometerplättchen aus dem Okular, namentlich das Leitzsche in der eigenen, herauszuschraubenden Fassung eignet sich gut, es liegt der Kondensorlinse fest auf.

[2]) Durchschnittswerte, Dezimalen fortgelassen.

5 Minuten die Spitze Quellung von 44 Prozent, nach einer Stunde 76 bis 118 Prozent.

Es folge noch ein Beispiel mit MERKELscher Lösung: Darin eine Stunde gebliebene, dann in Seewasser überführte Objekte zeigten Quellung an der Spitze 24 bis 106 Prozent, an den Seiten 59 bis 94 Prozent.

Wurden sie dagegen aus der Fixierflüssigkeit in eine Lösung von Alkohol und Seewasser zu gleichen Teilen überführt, so zeigten sie an der Spitze 41 Prozent, an den Seiten 53 bis 88 Prozent Quellung.

* * *

Neben der anscheinend resultierenden Unmöglichkeit einen normalen Wanddurchmesser zeigendes Material des Objektes zu bekommen resp. zu bewahren, erweist sich die Membran der Polysiphonia als ein ganz besonders leicht quellungsfähiges, d. h. in seinem Wassergehalt beeinflußbares Objekt. Man kann diese Eigenschaft mit Leichtigkeit wahrnehmen an den Pflanzen, die man in Seewasserpräparaten länger liegen läßt oder in offenen Schalen hält, sie beginnen (infolge der zunehmenden Konzentration des Seewassers) zu quellen. Daß hierbei die Quellung zu einer Trennung der Glieder eines Zellkörpers voneinander führen kann, habe ich in rein botanischer Arbeit früher gezeigt[1]. Vergleiche mit den Membranen anderer Algen liegen nicht vor. Die Schrumpfung der Membran von Glococapsa[2] und der „Gallerte“ von Zygnema[3] bei Einwirkung wasserentziehender Mittel (Alkohol) ist zwar bekannt, bei eben diesen dagegen nach Einwirkung von Säuren das Ausbleiben der Quellung hervorgehoben.

---

[1]) TOBLER, Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. XX, 1902, p. 360.
[2]) CORRENS, Flora 1889, p. 306.
[3]) KLEBS, Unters. a. d. bot. Institut Tübingen Bd. II, p. 336.

[Eingegangen am 23. Februar 1909.]

Studi microchimici e fisiologici sui tannini.

Di

Luigi Ermanno Cavazza
in Bologna.

Nel parlare di un nuovo metodo pratico per la dosatura dei tannini[1] notavo esser necessario diminuire la eterogeneità di tale famiglia chimica col provare diversi solventi e reattivi; poichè il progresso dello studio chimico e microtecnico (quindi fisiologico) dipende anzitutto dalla *differenziazione.*

In questo senso indirizzai le ricerche già pubblicate[2], e quelle che ora riferisco.

Non è qui il luogo per trattare della separazione chimica dei diversi tannini per mezzo di solventi: per es. nel benzolo la pirocatekina è solubile, e i tannini tipici sono insolubili; questi poi sono anche insolubili in etere puro, che scioglie invece pirogallolo e ac. gallico; finalmente nell' etere di petrolio il pirogallolo è solubile, l' ac. gallico è insolubile. Ma per i nostri studi, più che le solubilità (che però possono servire a decidere qualche caso) interessano le *differenziazioni microtecniche.*

Continuando la prova di altri reattivi ho ottenuti dei nuovi composti: Inditannati, Lantantannati, Iriditannati, Ittritannati, Palladitannati, che possono servire a differenziare diversi tannini; senza contare qualche altro che ho allo studio avendo avuti risultati dubbi, come per es. col Cerio[3].

---

[1]) Chem. Zentralbl. Bd. II, 1908, p. 2045. Ma alla riga 15 leggi 1 mm^3, e non 1 cm^3.

[2]) Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXV, 1908, p. 13—20.

[3]) Altri composti con Ta, Ti, Nb, ho per caso trovati accennati da M. Moniotte (in Moissan); così pure in J. Dekker (De Looistoffen — April 1908) sono notati alcuni composti che io ho sperimentati come nuovi, non avendoli potuti trovare in nessuna opera per quanto vasta e moderna. Soddisfo volentieri a questo debito di lealtà, perchè ciò conferma la verità dei miei risultati, senza scapito del mio lavoro che fu pubblicato due mesi *prima* di quello di Dekker, e nel quale restano nuove la *serie* dei composti e tutte le applicazioni.

Un altro reattivo, già provato ma che era senza nessuna applicazione, è il $AuCl_3$.

Io ho potuto accertarmi che col cloruro aurico si ottengono diversi prodotti a seconda che si usi diluitissimo o concentrato: nel primo caso si ha una *riduzione aurosa* di color nerastro, nel secondo caso si ottiene un prodotto di *riduzione aurica* di color giallo-bruno[1].

Dopo le prove fatte con cloruro aurico diluitissimo sopra soluzioni tanniche concentrate (comme quelle degli idioblasti tanniferi), non dubito di affermare che questo reattivo è utile per molti tannini ed è *indispensabile* per quelli che, come la floroglucina, mostrano con gli altri reattivi poca affinità. Occorre però ricordare che altre sostanze organiche, come l'ac. ossalico, producono analoghe riduzioni.

W. Pfeffer[2] dice che la floroglucina, che è fisiologicamente analoga ai tannini, non reagisce nè col bicromato, nè coi sali ferrici; invece io ho ottenuto col $FeCl_3$ una bella colorazione *viola* pallida caratteristica, e ben diversa da quella della vanillina, della pirocatekina, e del pirogallolo.

Quindi, contrariamente a quanto dice J. Czapek, anche le reazioni ferriche possono dare qualche indizio microtecnico differenziatore, come si vedrà in una prossima tabella.

Intanto col $FeCl_3$ si possono suddividere i principali tannini in

— derivati *violetti* (gallici) { resorcina [**1**, 3]; idrochinone [**1**, 4]; alizarina [**1**, 2]; pirogallolo [**1**, 2, 3]; floroglucina [**1**, 3, 5]; vanillina [**1**, 2, 4]; salingenina [**1**, 2]; ac. salicilico [**1**]; α-naftolo [**1**].

Osservando la posizione degli *ossidrili*, si vede che un solo ossidrile è comune, cioè quello in posizione **1**. Basta ricordare la struttura dell'ac. salicilico, e dell'α-naftolo = [formula di struttura: OH; 1, 2, 3, 4]

[1]) Hanno dunque somiglianza coi due ossidi, piuttosto che con tannati essendo insolubili in ac. acetico e ac. cloridrico; ma si sciolgono in ac. nitrico. Del resto, anche altri composti appaiono ossidi conglobati, o labilmente combinati mentre è evidente una energica riduzione.

[2]) Pfeffer, W., Pflanzenphysiologie I, p. 494.

— derivati *verdastri* (catekici) { pirocatekina [1, **2**]; ac. protocatekico [1, **2**, 4]; ac. caffetannico [**2**]; ac. ampelotannico; β-naftolo [**2**];

Questi hanno comune l'ossidrile in posizione **2**, come si vede senza dubbio nel β-naftolo = [formula: 1, 2 OH].

Perciò si potrebbe dire che i derivati *gallici* sono α-tannini; e i derivati *catekici* sono β-tannini.

Che l'alizarina (derivato catekico) si colori in violetto si può spiegare con la prevalenza dell'ossidrile 1; ma non si spiega perchè non reagisce col $FeCl_3$ l'alcool benzilico, mentre si colora in violetto la salingenina: eppure ambedue hanno il gruppo CH_2OH in posizione 1; nè perchè non reagiscano gli acidi *meta-* e *para*-ossibenzoici, mentre reagiscono la resorcina [1, 3] e la floroglucina [1, 3, 5], l'idrochinone [1, 4] e la vanillina [1, 2, 4].

Ho creduto bene accennare questo nuovo problema che interessa anche la microchimica, e potrà giovare negli studi strutturali dei tannini. Ma anch' io sono d'accordo nel ritenere insufficenti le reazioni ferriche. Del resto nessun reattivo basta, da solo, per differenziare e individuare un tannino; ma occorrono tre o quattro prove con reagenti diversi, specialmente vanadato ammonico, bicromato potassico, idrato potassico, carbonato di tallio, nitrato d'uranio, idrato di stronzio, cloruro aurico, ecc.

Veramente importanti sono le applicazioni del *vanadato ammonico* (NH_4VO_3) per distinguere nettamente la resorcina, la floroglucina, la vanillina, dal pirogallolo, dall'ampelotannino, dalla pirocatekina, e da altri tannini come risulterà dalla tabella riassuntiva.

Il *bicromato* ($K_2Cr_2O_7$) serve a distinguere la pirocatekina dall'ampelotannino, la floroglucina dalla vanillina, e tutti questi dal pirogallolo.

L'*idrato potassico* (KOH) offre distinzioni interessanti fra l'ampelotannino e la pirocatekina e il pirogallolo; fra la resorcina e la floroglucina e la vanillina.

Il *cloruro aurico* ($AuCl_3$) serve a distinguere la floroglucina dal pirogallolo, e l'idrochinone da tutti gli altri.

Col *carbonato* di *tallio* (Tl_2CO_3) si distingue splendidamente l'ampelotannino dalla pirocatekina; il pirogallolo e l'idrochinone dalla

resorcina, dalla floroglucina, e dall' ac. salicilico; il caffetannico da tutti gli altri.

Il *nitrato* d' *uranio* ($UO_2[NO_3]_2$) distingue l'ampelotannino dal pirogallolo, dall' idrochinone e dalla resorcina.

Il *cloruro* di *palladio* ($PdCl_2$) serve a distinguere l' idrochinone dalla vanillina e dalla resorcina; l' ampelotannino dalla floroglucina, dalla vanillina dall' idrochinone e dalla pirocatekina.

Ho tenuto conto dell' idrochinone perchè si trova, nella forma glucosidica di *arbutina*, in alcuni vegetali; dell' ac. salicilico perchè comune in molte piante delle famiglie: gigliacee, violacee, resedacee, ed altre; nè potevo trascurare la vanillina pei suoi derivati molto diffusi, come la glicovanillina che fu trovata anche nell' *avena sativa*, e la *coniferina* (che per ossidazione dà appunto glicovanillina) comune a molte piante.

Nella tabella (pag. 63) riassumo le *differenziazioni microchimiche* di alcuni tannini fondamentali:

L' altra volta vedemmo come si possano distinguere per mezzo del *tallio* e dell' *uranio* i seguenti tannini: castanotannico, caffetannico, pelargotannico, quercitannico, patoquercitannico, e ampelotannico; ora abbiamo differenziato: pirogallolo, pirocatekina (distinguendola da caffetannico ed ampelotannino), idrochinone, resorcina, floroglucina, e vanillina.

Ora se con questi pochi reattivi riusciamo a differenziare sicuramente i tannini fondamentali, non è azzardato sperare che coi rimanenti più di *trenta* altri reagenti[1], conseguiremo una differenziazione completa, con grande vantaggio delle ricerche fisiologiche.

Poichè gli studi microtecnici non hanno per oggetto soltanto la fitochimica, ma ancor più la fisiologia vegetale.

Non sarà quindi fuor di luogo qualche cenno sulle recenti ricerche che ho fatte sull' *andamento quantitativo* dei tannini nelle foglie e nei rami di quercia, di castagno, di tamarisco e di abete.

Senza dilungarmi in particolari tecnici, noterò che per le ricerche sull' andamento *annuo* ho raccolto i rami e le foglie in giorni opportunamente determinati, ed alle stesse ore di sole per eliminare le differenze dovute a fotosintesi.

---

[1]) Oltre ad alcaloidi, albumina, permanganato: Li, K, Na, Ca, Mg, Ba, Cr, Mo, W, Fe, Os, Co, Ni, Cu, Au, Al, Sb, Pb, As, Bi; e quelli da me provati: Rb, Cs, Sr, Y, La, Ce, Th, V, Nb, Ta, U, Ir, Pd, In, Tl, e qualche altro.

Nota: pr. = precipitato. s. = soluzione. oss. = soluz. ossidata all'aria.

	Piro-catekina	*Ampelotann.*	*Caffetann.*	*Pirogallolo*	*Resorcina*	*Floro-glucina*	*Vanillina*	*Idroehinone*	*ac. salicilico*
$FeCl_3$	verdastro	verdastro	verde	nero-violetto	violetto	viola pallido	violazzurro	grigio-violetto cristall.	violetto
NH_4VO_3	indaco cupo	indaco verdastro	indaco verdastro	indaco	giallastro	s. gialla	s. gialla	giallastro grigio	s. gialla
KOH	verde	rancione		bruno scuro	giallo intenso	roseo	rosa chiarissimo	bruno	verdogonlo pallido
$K_2Cr_2O_7$	bruno violaceo	mattone		bruno rossastro	caffè	bruno	s. gialla	bruno	s. gialla
Tl_2CO_3	oss. verdastra	pr. caseoso imbrunito	verde	pr. giallastro	oss. jalina	oss. rosea	nulla	pr. nerastro	nulla
$UO_2(NO_3)_2$	s. rosea	pr. mattone		s. rossa scura	s. arancio	s. gialla	s. giallo chiaro	s. rossa	bruno chiaro
$AuCl_3$ diluitissimo	nero violaceo	verdastro		nero giallastro	azzurrastro	indaco	azzurrastro	aghi violacei	azzurrastro poi viola
$PdCl_2$	pr. nero verdastro	pr. rancione		pr. nerastro	pr. rossastro	s. rossa deposito giallastro	nulla	pr. denso nerastro	

Nelle ricerche sull'andamento *diurno*, raccolsi il materiale nelle diverse ore dello stesso giorno per avere dati confrontabili.

I risultati ottenuti quest'anno sono abbastanza concordanti fra loro; tuttavia aspetto la conferma di un altr'anno di prova, prima di dedurre tutte le necessarie conclusioni. Ad ogni modo le ricerche fatte fino ad ora mi portano a ritenere:

1º Che sebbene l'*andamento* quantitativo *diurno* dimostri un minimo verso il sorgere del sole, ed un massimo verso le ore 16 pomeridiane, i tannini non aumentano rigorosamente col crescere della potenzialità elaborativa delle foglie, tant'è vero che in maggio e agosto si notano diminuzioni, che potrebbero però attribuirsi ad assorbimenti del chimismo vegetale.

2º Nell'andamento *annuo* della *foglie* si trova una diminuzione dei tannini verso il maggio, ed un massimo in settembre.

3º Nell'andamento annuo dei tannini dei *rami*, si notano massimi in maggio, alla fine di dicembre, e in luglio; mentre il minimo è verso il settembre[1].

Pare dunque che, almeno per molti mesi, la quantità di tannino delle foglie sia in ragione inversa a quella dei rami.

Sarebbe interessante estendere queste ricerche a molte altre spece vegetali, studiando anche l'andamento dei tannini radicali, in modo da avere il diagramma completo diurno ed annuo dei tannini nelle diverse parti delle piante, onde poterne chiarire le vicende e le funzioni.

Poichè non è da credere che il loro compito fisiologico si restringa ad azioni fellogeniche, ecologiche, o preservative.

Il tannino che si trova nel mesocarpo di tante frutta, e dentro cellule che contengono albuminoidi (quasi a precorrere gli studi del Delage sul meccanismo tanno-albuminoideo che in taluni casi supplisce al *centrosoma* fecondante), il tannino ch'è a contatto con sostanze così importanti, deve avere ben altre ragioni di essere, altro influsso fisio-chimico nelle piante.

---

[1] I miei dati si scostano dai vecchi risultati dell'Oser (1875), dell'Hampel, dell'Eitner; e quasi si accordano con alcuni del Trimble, e di Levi e Wilmer.

Bologna — gennaio — 1909.

[Eingegangen am 25. Januar 1909.]

[Aus dem pathol.-anat. Institut der Kais. medizinischen Militär-Akademie in St. Petersburg. Direktor: Prof. Dr. A. Moïssejeff.]

Theorie und Praxis des Schleifens.

Von

Dr. L. W. Ssobolew.

Hierzu sieben Textabbildungen.

Viele praktische Ärzte, besonders aber die Chirurgen, und die Histologen haben scharfe, schneidende Instrumente nötig. Sogar die Ärzte, welche in größeren Städten sich befinden, sind in dieser Beziehung nicht immer ganz zufrieden. Sie sind ja auch auf den Schleifer angewiesen. Die Schleifer aber arbeiten meist instinktiv, sie wissen nicht genau, was dieses oder jenes Instrument leisten soll, und können es nie erfahren, weil sie diese Instrumente nicht gebrauchen. Die meisten Ärzte geben sich keine Mühe, ihnen die Frage klar zu machen, sie verstehen nur die Schleifer zu tadeln und zu wechseln. Die Landärzte sind noch schlimmer daran.

Wenn die Chirurgen auch nicht ganz scharfe Messer doch gebrauchen können, ist dies ganz ausgeschlossen für die Histologen. Die Mikrotommesser haben sehr feinen Schliff, werden sehr bald stumpf, und beim Schleifen derselben sind einige Maßregeln zu beachten, welche den Schleifern meist unbekannt sind, da sie keine Ahnung vom histologischen Schneiden haben. Es müßten also die Histologen entweder selbst ihre Messer schleifen, oder ihrem Schleifer das histologische Schneiden bekannt machen. Vielen erscheint dieses feine Schleifen sehr schwierig, etwas mysteriös und für nicht besonders begabte Leute unerreichbar.

So dachte ich auch selber darüber, bis ich einmal, noch im achten Semester, das Schleifen des Mikrotommessers selbst zu probieren wagte. Ich war dabei beinahe verzweifelt, ich brauchte eine Schnittserie und mein Messer war nach vielem Schleifen in verschiedenen Geschäften doch nicht scharf genug. Mein erster Versuch

war mit Erfolg gekrönt, ich habe es ebenso fertig gebracht wie der Spezialschleifer. Später ging es noch besser, ich verstand mit der Zeit noch besser das Wesentliche beim Schleifen, und mein Verfahren war zweckmäßig. Es erwies sich weiter, daß auch andere Leute sehr leicht das lernen können. Ich habe es einigen Chirurgen, einzeln als auch gruppenweise, gelehrt. Der Diener in unserem Institute ist auch mein Schüler. Er schneidet selbst auf dem Mikrotom, und bei der stetigen Übung schleift er noch besser als ich.

* * *

Im Grunde der Wirkung unserer schneidenden Instrumente liegen die Prinzipe vom „Keil" und „Säge". Beim Schneiden mit den meisten Instrumenten wirken die beiden zusammen. Das scharfe Ende des Keils dringt in die Gewebe ein, seine schiefen Seitenflächen schieben dabei die Gewebsteile auseinander. Durch die Zähne der Säge anderseits wird eine Scheibe des Gewebes abgetragen und das Vordringen der Säge dadurch bewirkt. Die meisten Messer haben eine Keilform und viele kleinsten Zähne an der Schneide, sie werden nicht nur in die Tiefe gedrückt, sondern auch wie eine Säge beim Schneiden geführt. Die höchste Schonung der Gewebe erreicht man, wenn der Keil möglichst dünn und scharf ist, wenn die Säge schmal und ihre Zähne möglichst klein sind.

Das Eindringen des Keils in die Tiefe geschieht nach den bekannten in Lehrbüchern der Physik zu besprechenden Gesetzen und Formeln. Ich unterlasse die Ableitung dieser Formeln und beschränke mich mit den letzteren: die auf den Rücken eines Keils wirkende Kraft steht in demselben Verhältnis zur Widerstandskraft, wie die Rückenbreite des Keils zur Seitenlänge. Oder mit anderen Worten, bei dem gleichen Widerstande muß man für das progressive Eindringen des Keils in die Tiefe um so größere Kraft anwenden, als der Keilrücken breiter und die Seiten kürzer sind, d. h. als der Winkel der Keilspitze größer, stumpfer ist. Die Anwendung der minimalen Kraft erleichtert die Graduierung derselben und gewährleistet eine bessere Schonung der Gewebe, aber sie ist unbedingt mit möglichster Verkleinerung des Winkels der Keilspitze verbunden. Diese Verkleinerung ist aber einerseits durch die Eigenschaften des Instrumentenmaterials, anderseits durch die der zu schneidenden Objekte begrenzt. Die lange und schmale Schneide des Keils wird sehr bald abgebrochen bei hartem oder gebogen bei weichem Stahl und desto eher, je

härter das Objekt ist. Es ist darum nötig für verschiedene Objekte die Instrumente von verschiedenen Stahlarten und auch mit verschiedenen Winkeln herzustellen. Empirisch ist das Optimum dieser Eigenschaften für verschiedene Fälle festgestellt. Für die weichen, zarten Organe, welche von der Gewalt sehr leiden können, wie z. B. Auge, Gehirnsubstanz, werden möglichst schmale, bei spitzem kleinem Winkel geschliffene Messer gebraucht. Die Messer für die gewöhnlichen Arbeiten, also zum Schneiden von Haut, Muskeln usw. macht man solider und schleift beim größeren Winkel bis etwa 30°. Schließlich sollen die Instrumente, wie Meißel, Raspatorien usw. für die erfolgreiche Wirkung einen Winkel von etwa 60° haben. Ihre Spitze soll sicher fest sein, die Kraftökonomie kommt bei der Arbeit mit diesen Instrumenten nicht in Betracht.

Die Instrumente werden viel leichter und bequemer, und ihre Schneide dringt gut ein und ist dauerhaft, wenn sie nicht einfachen, sondern komplizierten, doppelten Keil darstellen. Die ganze Klinge hat dabei einen kleineren Winkel und ist schmal und leicht, nur die Schneide wird bei etwas größerem Winkel geschliffen und wird dadurch viel mehr leistungsfähig (s. Fig. 3). Es wird darum die Fähigkeit zum Eindringen in die Tiefe bei den meisten Instrumenten durch die Größe beider Winkel bedingt: erstens des Winkels der Schneide oder des Schliffwinkels und zweitens des Winkels der Klinge selbst.

Während der Arbeit wird die Schneide abgestumpft, d. h. abgerundet, abgeplattet oder einfach seitlich verbogen. Längs der Schneide bilden sich dabei Dellen, Defekte, oft unrichtig Zähne genannt. Die Schneide stellt dann keine richtige gerade oder krumme Linie dar, und auf dem Durchschnitt hat sie auch keinen spitz endigenden Winkel mehr. Das Schleifen auf dem Steine besorgt beides. Eine oberflächliche Stahlschicht wird von den beiden Schliffseiten abgetragen, dadurch wird die Schneidelinie wieder eben und der Schneidewinkel spitz. Natürlich muß jedesmal dieselbe Inklination der Klinge zur Steinfläche, derselbe Schneide- bzw. Schliffwinkel beibehalten werden. Schon die Veränderung dieses Winkels allein kann manches Instrument für seine gewöhnliche Arbeit unbrauchbar machen. Man bekommt dabei selbstverständlich eine zu schwache oder zu starke, dicke Schneide. Die Mikrotommesser, welche immer in derselben bestimmten Lage befestigt werden (Weigertsche Form oder einfacher Messerhalter), können nicht mehr serienweise schneiden, wenn sie einmal zu steil geschliffen waren. Es kommt dabei zunächst in Be-

rührung mit dem Objekt nicht die eigentliche Schneide-Schliffwinkelspitze, sondern der Winkel zwischen den Flächen von Schliff und Klinge. Dieser Winkel drückt auf das Objekt, es kommen keine Schnitte heraus. Schließlich bei etwas gröberer Einstellung kommt in Berührung mit dem Objekt die Schneide selbst und schneidet es an. Gleich aber darauf hebt die schief zum Horizont stehende Schliffebene die Schneide bogenweise nach oben. Man kann dabei sich etwas helfen, wenn man den Messerrücken auf diese oder jene Weise hebt.

Die geschilderten Nachteile und Übel werden bei den Mikrotommessern durch die genau passenden Abziehvorrichtungen vermieden. So eine Vorrichtung wird auf den Messerrücken aufgezogen, mit dem Messer zusammen geschliffen und gibt immer denselben Schliffwinkel. (Streng mathematisch — nicht denselben, weil die Klinge mit der Zeit schmäler, die Vorrichtung aber nicht dementsprechend abgeschliffen wird.) Das ist nur dann richtig, wenn jedem Messer eine spezielle Abziehvorrichtung entspricht.

Man kann diese Inklination auch mit der freien Hand geben, aber diese Hand muß fest und geübt sein. Auch dem geübten Schleifer gelingt es nicht immer, den richtigen Schliffwinkel zu wählen; ist es dabei doch nötig, einen entsprechenden Messerhalter zu gebrauchen, welcher die Neigung des Messers zu wechseln gestattet.

Für die Messer für Paraffin- und Gefrierschnitte eignen sich mehr dickere Abziehvorrichtungen, welche ihren Rücken beiderseits umfassen und verdicken. Diese Vorrichtungen haben die Form eines zylindrischen Rohres mit einer Rinne längs desselben für die Aufnahme des Messers, welches durch eine Feder oder Schraube befestigt wird (s. Fig. 1, 3 u. 4). Es werden auch solche Vorrichtungen gemacht, welche aus zwei etwas gegeneinander verschiebbaren Metallplatten bestehen. Diese werden an die Messerseiten angedrückt und durch zwei Schrauben befestigt. Um eine ganz schmale Schneide zu haben, schleift man die Messer für Celloïdin (*a*) mit Abziehvorrichtung aus Draht, die nur an die untere Seite des Messers angebracht wird. Die obere Seite dieser Messersorte ist hohl, konkav gemacht und läßt sich bequem direkt schleifen, auf dem Steine mit der Schneide und dem Rückenrand liegend (s. Fig. 2).

Das Instrument auf dem Steine wird s t e t s d i e S c h n e i d e n a c h v o r n e geführt. Man fängt an einem Ende des Steins mit der Messerferse, d. h. mit dem dem Griffe nächsten Teile der Klinge, an, zieht das Messer gegen sich und schließt die Bewegung an dem

anderen Ende des Steines mit der Messerspitze. Die Messer mit gerader Schneide verlangen dabei keine Veränderung der zuerst gegebenen Lage; krumme Schneide mit einem Bauch macht aber eine entsprechende Drehung mit der Spitze nach vorne notwendig. Um

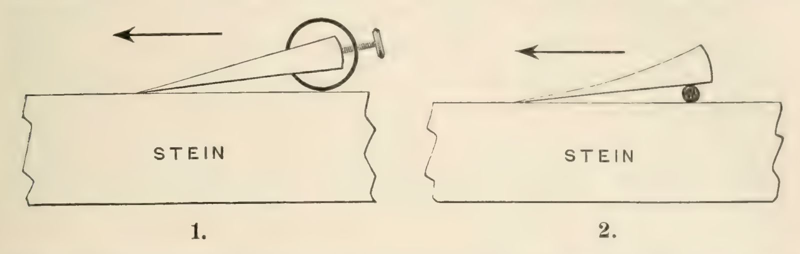


Fig. 1. Das Schleifen des biplanen Mikrotommessers (c) auf dem Steine. Die Richtung der Bewegung ist durch den Pfeil gezeigt.

Fig. 2 zeigt dasselbe wie Fig. 1 mit dem dünnen, plankonkaven Messer (a). In beiden Figuren sind auch entsprechende Abziehvorrichtungen angedeutet.

dem Messerbauche auch dieselbe Neigung, denselben Schliffwinkel zu geben, ist jetzt nötig, nicht den Messerrücken, sondern den Griff zu heben. Für die Anfänger ist es besser und sicherer in Berührung mit dem Steine immer zuerst den Messerrücken, dann auch die

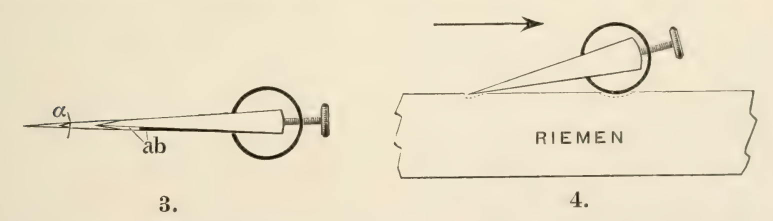


Fig. 3 zeigt, wie das Messer durch vieles Schleifen schmäler und an der Schneide dicker wird. Die teilweise schwarz gestrichene (Dreieck auf dem Durchschnitt) Stahlplatte $a\,b$ soll schließlich abgeschliffen werden.

Fig. 4. Das Abziehen auf dem Riemen. Der Pfeil zeigt die Bewegungsrichtung, die punktierten Linien sollen die nachgebende Riemenoberfläche darstellen.

Schneide zu bringen und erst jetzt die nötige Neigung zu geben. Nur eine ziemlich große Übung gestattet, das Messer direkt schon in eine Winkellage zur Steinfläche zu bringen. Wenn man also zum Ende der Steinfläche gekommen ist, wiederholt man die Bewegung in entgegengesetzter Richtung mit der anderen Seite des Messers. Ein sehr stumpfes Messer kann man zuerst von einer Seite, ohne

umzudrehen, in beiden Richtungen schleifen, und dann von der anderen; aber es empfiehlt sich nicht dies oft zu machen. Es ist besser, immer gleich nacheinander die Seiten zu wechseln, es wird dabei der Schliff beiderseits viel gleichmäßiger.

Es ist nicht nötig, das Messer gegen den Stein stark zu drücken, es wirkt sogar schädlich, wenn ein feiner Schliff erforderlich. Man läßt das Messer beinahe nur mit seinem eigenen Gewichte gegen den Stein drücken. Für sehr stumpfe Messer ist wieder auch von dieser Regel eine Ausnahme zulässig. Man schleift sie bei gewissem Druck sogar auf dem grobkörnigen Steine, um die ziemlich dicke Stahlschicht abzutragen, aber wenn das Messer beginnt scharf zu werden, unterläßt man jeden Druck.

Der Druck beim Schleifen, sowie die Führung des Messers den Rücken nach vorne, begünstigen die Bildung des Grates, welcher auch beim überflüssigen Schleifen immer gebildet wird. Den „Grat“ nennt man eine sehr schmale nachgiebige Metallplatte, die auf der freien Seite der Schneide gebildet wird. Der Nachgiebigkeit, Elastizität wegen ist dieser Grat mit dem weiteren Steinschleifen schwer abzutragen, sogar umgekehrt, je länger man schleift, desto größer wird sie bis zu gewisser Grenze und ihre Elastizität wächst etwas mit ihrer Größe.

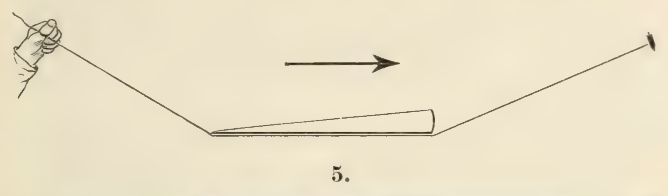
Es ist ganz klar und augenscheinlich, daß der Grat beim richtigen Schleifen ohne Druck und die Schneide nach vorne minimal wird. Der Grat besitzt keine Arbeitsfähigkeit, schon bei erster Berührung mit dem zu schneidenden Objekte wird er seitlich abgebogen, mit ihm aber auch ein Teil der eigentlichen Schneide. Es ist darum beim Schleifen außerordentlich wichtig, das Ende des nützlichen Schleifens und den Anfang der Bildung des Grates zu bestimmen.

Manchmal ist es doch unmöglich, die Bildung des letzteren zu vermeiden, und zwar, wenn die Schneide einige Dellen oder besonders stumpfe Stellen besitzt, die geebnet werden sollen. Die Dellen, die wenig gelitten haben, werden dabei über das Maß geschliffen. Der einmal gebildete Grat ist durch Abziehen auf dem Riemen wegzubringen.

Die Mikrotommesser, wenn sie nicht allzusehr abgestumpft sind und jedes seine eigene Abziehvorrichtung hat, sind sehr leicht auf dem Steine bis zum richtigen Grade zu schleifen. Man braucht das Messer nur 5- bis 10mal in jeder Richtung zu führen.

Die Bestimmung des Endes vom nützlichen Schleifen ist darum beinahe das wichtigste Moment der ganzen Prozedur und verlangt eine gewisse Übung und sogar Kunstfertigkeit. Am besten ist sie

vermittelst des Daumens auszuführen. Den Messergriff hält man mit einer Hand, seinen Rücken legt man auf die vier Finger der anderen und probiert mit dem Daumen dieser letzteren. Wenn aber das Messer nur von einer Hand gehalten wird, und seine Schärfe von einem Finger der anderen bestimmt wird, so ist diesmal die Koordination der Bewegungen zweier Hände viel gröber, als die zuerst beschriebene — der Finger ein und derselben Hand. Die Folgen davon sind ersichtlich — die Schärfe wird nicht bestimmt, und die Finger werden oft blutig geschnitten. Wenn aber der Finger bei richtiger Lage längs der Schneide geführt wird, so gewinnt man eine klare Vorstellung über deren Charakter, ob die Schneide scharf, ob sie Dellen und Grat hat, nach welcher Seite ist der letztere abgebogen und schließlich, was für ein Stein gebraucht, ob er grob-



5.

Fig. 5. Abziehen auf dem Riemen ohne Abziehvorrichtung. Die Wirkung der letzteren ist durch die Nachgiebigkeit des mit freier linker Hand gehaltenen Riemens ersetzt.

oder feinkörnig war. Auf der stumpfen Schneide gleitet der Finger ganz glatt, eine scharfe Schneide dringt in die Tiefe des Epidermis ein und um so weniger merklich, je feiner, glätter der Schliff ist. Im besten Falle merkt man das Eindringen des Messers erst beim Abnehmen des Fingers. Darum muß man als Regel beachten, jedes Messer mit unbekannter Schärfe als sehr scharfes zu probieren, d. h. den Finger beständig nur ganz kurze — 2 bis 3 cm lange — Strecken zu führen, denselben abzunehmen und dann gleich mit der Probe weiterfortzufahren. Alles dies ist viel leichter und schneller gemacht als geschrieben. Schließlich bei einer gewissen Übung ist es ganz leicht auf diese Weise zu bestimmen, ob das Messer 10 oder 5 μ dick schneiden kann. Bei dieser Probe habe ich noch nie meine Finger blutig geschnitten (s. Fig. 6).

Diese Probeart ist unentbehrlich beim feinen Schliff, aber sie ist unbequem für die Chirurgen, weil dabei in der Epidermis eine Reihe kleiner, seichter Schnitte gebildet wird und in diesen Schnitten in-

fektiöse Verunreinigungen festsitzen können. Die chirurgischen Instrumente bedürfen auch keines besonders feinen Schliffes, wie z. B. Mikrotommesser und für sie genügt auch eine gröbere Probe der Schärfe gegen die Haare am Hinterkopf.

Das geschieht so: das Messer wird unter einem spitzen Winkel gegen die Haare gestellt, die Schneide nach unten, und durch kleine kurze Bewegungen nach unten wird es bestimmt, ob das Messer an den Haaren greift. So wird die ganze Länge der Schneide aus-



6.

Fig. 6. Photogramme der Probe mit dem Daumen eines Mikrotommessers.

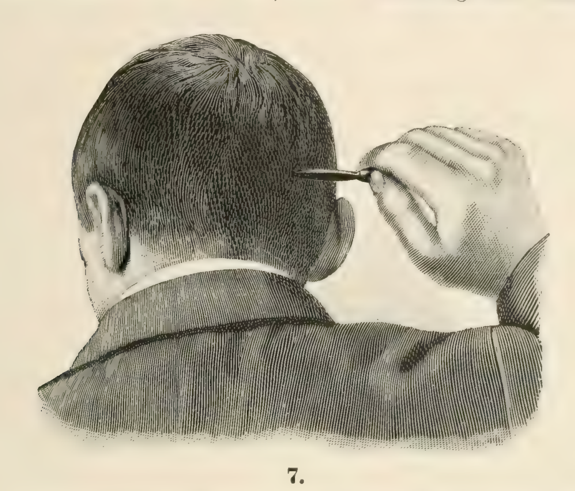
probiert; das Messer muß bei der krummen Schneide entsprechend umgedreht werden. Wenn es überall leicht die Haare oberflächlich anschneidet, kann man das Schleifen lassen und zum Abziehen mit dem Riemen übergehen. Am Hinterkopf sind keine Spuren auch der mehrmaligen Probe zu merken, die Haare werden nicht abrasiert (s. Fig. 7).

Oft versucht man die Schärfe der Messer (meist Tafel- und Federmesser) durch das Führen der Finger quer gegen die Schneide, durch das Abreiben mit derselben zu bestimmen. Bei dieser sehr groben Probe wird eine fein geschliffene Schneide übersehen und sicher verdorben. Diese Probe soll darum in der Küche bleiben.

Die Probe mit dem freien Haare kann nur an einem abgezogenen Messer ausgeführt werden. Darüber sage ich ein paar Worte später.

Nun taucht selbstverständlich die Frage auf, was das Schleifen mit dem Steine allein leisten und ob man sich damit begnügen kann.

Das Endresultat vom Schleifen ist natürlich von der Härte des Stahls, sowie von der Korngröße des Steines abhängig und demgemäß verschieden. Der Schliff ist desto feiner, je härter (bis zu gewissem Grade) der Stahl, und je feiner der Steinkorn ist. Der Grat bildet sich in diesem Falle nur in geringstem Umfange und der Schneiderand, im Mikroskop beobachtet, stellt eine Linie mit sehr feinen Zähnen und Dellen, der Steinkorngröße entsprechend,



7.

Fig. 7. Photogramme der Probe eines Messers gegen die Haare am Hinterkopf.

dar. Auch im günstigsten Falle ist also die Schneide sägeartig und mit einem Grat versehen. Diese Schneide ist nicht dauerhaft und noch des Abziehens mit dem Riemen bedürftig.

Hier möchte ich auch ein paar Worte über das Abschleifen sagen. Die Klinge selbst wird mit der Zeit vom Schleifen schmäler und die Seiten des Schliffwinkels bedeutend breiter. Dann drücken und pressen diese Seiten das zu schneidende Objekt und verhindern das Eindringen der Schneide in die Tiefe. In diesen Fällen ist es nötig, dem Messer seine ursprüngliche Form wiederzugeben. Es geschieht durch das Abtragen kleiner Stahlplättchen (s. Fig. 4, *a b*) von beiden Seiten des Messers, durch das Abschleifen. Das Abtragen geschieht nicht gleichmäßig auf der ganzen Fläche, sondern an der Schneide mehr und am Rücken am wenigsten. Das Abschleifen wird

bewirkt auf einem Gestell durch eine schnell drehbare Kreisplatte mit aufgetragenem Schmirgelpulver. Dabei muß streng beachtet werden, daß die Seiten der Klinge denselben Charakter behalten, daß z. B. die flache Seite nicht in eine konkave umgewandelt wird usw., und daß der Härtegrad des Stahls auch unverändert bleibt. Über alles dies muß der Meister genau unterrichtet werden, da das Abschleifen natürlich nur von den Meistern in den Anstalten ausgeführt werden kann.

Das Abziehen geschieht nun auf einem weichen nachgiebigen Material, auf dem Riemen. Das Messer wird dabei mit dem Rücken nach vorne geführt und unter demselben Winkel wie beim Schleifen. Wie auf dem Stein, so auch hier wird für jede Seite der Klinge die ganze Länge des Riemens ausgenützt. Auf einer Seite schiebt man die Messerspitze nach vorn, auf der anderen die Ferse gegen sich. Auf die andere Seite kehrt man das Messer, wenn man es nicht heben will, stets über den Rücken um, sonst wird die Schneide beschädigt. Man übt nur einen ganz kleinen Druck aus und fährt mit dem Messer etwas schneller, als wie auf dem Steine vorwärts. Zum Schluß wird die untere Seite abgezogen, dann sehen die noch eventuell bleibenden kleinen Zähne und Grat nach oben, was natürlich nur für Mikrotommesser von Bedeutung ist.

Die Wirkung der Riemen ist wegen ihrer Weichheit von der des Steines grundverschieden. Das eigentliche Schleifen ist dabei sehr gering oder bleibt aus, aber infolge der Nachgiebigkeit der Riemen macht die Schneide eine kleine Vertiefung auf ihrer Oberfläche, und darum wirkt der Riemen auf den Schneiderand unter einem größeren Winkel, als wie das Schleifen zuerst geschah (s. Fig. 3). Demnach wird der Grat umgebogen und fällt ab, mit ihm auch die kleinen Zähne, die Schneide wird glatt und eben. Das läßt sich gleich mit dem Finger, auch unter dem Mikroskop konstatieren. Sie ist jetzt auch schärfer, sie dringt viel leichter in die Tiefe der Epidermis ein, was auch ganz klar mit der Haarprobe ist. Mit diesem dritten Winkel (Abziehwinkel) ohne Grat ist die Schneide viel dauerhafter und arbeitsfähiger, als wie früher, das Messer ist ganz zur Arbeit bereit. Es ist vorteilhafter, ein auf dem gröberen (aber nicht allzu groben, z. B. Schiefer-) Steine geschliffenes und dann abgezogenes Messer zu haben, als ein sogar mit dem feinsten, z. B. Arkansassteine geschliffenes und nicht abgezogenes.

Wenn das Instrument nicht besonders abgestumpft ist, ist es möglich, dasselbe durch das Abziehen wieder scharf zu machen und die Prozedur mit Erfolg noch einige Male zu wiederholen. Das

Messer muß aber schließlich wieder mit dem Steine geschliffen werden, weil durch das wiederholte Abziehen die Schneide allzusehr abgerundet wird: sie dringt dann schlecht ein, trotzdem sieht sie unter dem Mikroskop ganz glatt aus. Mit dem Finger ist aber der Zustand sehr leicht zu bestimmen. Darum empfehle ich die Fingerprobe; mit dem Mikroskop sieht man nur Zähne und Dellen, wenn aber keine da sind, so sieht das stumpfste Messer genau so wie das schärfste aus. Die Probe mit dem frei in der Hand gehaltenen Haare ist auch mehr ein Spiel als eine ernste Probe. Es geht hoffentlich klar aus dem oben Geschilderten hervor.

Weiter kann das Abziehen nicht schon darum das Schleifen ersetzen, weil sogar die kleineren Dellen nicht beseitigt werden. Der nachgiebige elastische Riemen kommt in dieselben hinein, er reibt und schärft ihre Oberfläche ebenso wie die der übrigen Schneide. Das Schleifen steht also zum Abziehen in demselben Verhältnis, wie das Abschleifen zum Schleifen selbst im engeren Sinne.

Nun gehe ich zu den Materialien, welche zum Schleifen und Abziehen dienen — den Steinen und Riemen über. Die Steine sind natürliche oder künstliche Komplexe der kleinen festen Partikelchenkörner, welche den Stahl streichen, abreiben können. Der Schleifstein muß selbstverständlich gleichartig sein, d. h. die Körner müssen von gleicher Größe und gleichmäßig voneinander entfernt sein. Die Unregelmäßigkeiten dieser Art, die sogen. „Knorren“, sind oft schon mit dem bloßen Auge zu sehen und noch besser lassen sie sich, wie auch die Korngröße durch die Hand bestimmen. Am besten ist es, für mich wenigstens, durch die Ulnarseite des Kleinfingers oder durch die Thenarwölbung zu probieren.

Meist ist der Stein um so billiger, je grobkörniger er ist und um so gröber und schneller schleift er. Die gebräuchlichsten Steinsorten sind folgende.

1) Der rötliche natürliche Sandstein kostet etwa 50 Pfg. Der Stein wird beim Schleifen mit Wasser übergossen, der Schliff ist schnell zu bekommen, aber etwas grob. Doch kann das geschliffene Messer, nachher auf dem Riemen abgezogen, sogar die Haare rasieren und ist darum auch für die einfachen Operationen und für Leichensektionen brauchbar. Der Stein ist in Rußland besonders in verschiedenen Gewerben verbreitet. Die gröberen Steinsorten ziehe ich nicht in Betracht.

2) Der graue natürliche Schleifstein aus dem Schiefer kostet das Stück etwa $^1/_2$ bis 1 Mk. Der Stein wird beim Schleifen mit Wasser oder mit Öl befeuchtet. Der Schliff geht langsam, ist aber

viel feiner. Die Steine sind beinahe durchaus gleichartig. Das richtig mit diesem Steine geschliffene und dann sorgfältig mit einfachem Riemen abgezogene Mikrotommesser kann Schnitte von 10 bis 15 μ Dicke geben. Die chirurgischen Instrumente werden mit diesem Steine ganz gut geschliffen. Er ist also ein Universalschleifstein. Der Namen paßt für ihn schon deswegen gut, weil er überall zu haben ist. Wenn es keine speziell dazu gehauenen Schleifsteine gibt, dann kauft man die in den Schulen gebrauchte Schiefertafel, sägt ein Stückchen daraus, klebt es mit Leim auf ein Holzklötzchen, — der Schleifstein ist fertig und kostet eine Kleinigkeit.

3) Der gelbe belgische Schleifstein (vermutlich künstlich gemacht, aber nicht immer gleichmäßig), kostet je nach der Größe 3 bis 10 Mk. Man schleift auf dem mit Öl beschmierten Steine langsam, der Schliff ist fein, ganz gut für die Mikrotommesser brauchbar, selbstverständlich auch für alle chirurgischen. Für die letzteren ist es besser, die untere Seite des Steines vorzuziehen, welche mit einer Platte etwas gröberer Steinsorte von bräunlicher Farbe bedeckt ist.

4) Der weiße amerikanische natürliche Schleifstein Arkansas- oder Mississipi-Stein genannt, kostet je nach der Größe 2 bis 20 Mk. Sein Korn ist sehr hart und fein, dementsprechend ist auch der Schliff sehr fein, ist aber sehr langsam zu bekommen. Der Stein ist natürlich für alle Fälle brauchbar, besonders aber für diejenigen, wo das Abziehen mit dem Riemen sehr schwierig oder ganz unmöglich ist, wie es bei manchen augen- und zahnärztlichen Instrumenten der Fall ist.

Sehr stumpfe Messer ist es vorteilhaft zuerst mit einem grobkörnigen und dann mit feinerem Steine zu behandeln, dadurch wird manchmal viel Zeit erspart.

Der Stein soll beim Schleifen immer mit einer Flüssigkeit beschmiert sein. Das trockene Schleifen der großen Instrumente, z. B. Holzsägen mittels besonderer Maschinen, sogar mit Dampfbetrieb, kommt hier nicht in Betracht, es geschieht unter anderen Bedingungen. Bei dem hier zu besprechenden feineren Schleifen auf dem trockenen Steine werden sehr bald die Räume zwischen den einzelnen wirkenden Körnern des Steines fest mit Stahlpartikelchen ausgestopft. Die Oberfläche wird dadurch geebnet, der Stein greift den Stahl weiter schlecht und ungleichmäßig an. Das geschieht aber nicht, wenn die Steinoberfläche mit einer Flüssigkeit begossen wird, in der die Stahl- und auch Steinpartikelchen suspendiert bleiben. Dazu sind folgende Flüssigkeiten gebräuchlich: einfaches und Seifenwasser, Petroleum

und Olivenöl. Je dicker die Flüssigkeit, je weniger beweglich sie ist, um so fester bleibt sie in den oben genannten Zwischenräumen unter dem darüberfahrenden Messer sitzen. Dadurch wird die Höhe einzelner Körner herabgesetzt und der Stein wie in einen feineren umgewandelt. Es ist also möglich auf ein und demselben Steine einen gröberen oder feineren Schliff zu erzielen, je nachdem ob man Wasser oder Olivenöl gebraucht. Dickere Flüssigkeiten bewahren auch den Stein vor zu schneller Ausnutzung und Aushöhlung. Die Mikrotommesser werden natürlich nur mit Öl geschliffen.

Nach dem Schleifen mit einem Steine soll das Messer von den daran haftenden Stahl- und Steinpartikelchen sorgfältig mit sauberer Leinwand befreit werden. Die Schneide faßt man dabei von beiden Seiten mit zwei Fingern durch die Leinwand und zieht die Finger nach abwärts. Die Körner eines gröberen Steines, einmal auf den feineren Stein oder den Riemen aufgetragen, stören später den feinen Schliff. Die Steine kann man leicht davon befreien, die Riemen aber sehr schwer; die letzteren können also dadurch manchmal verdorben und für feinen Schliff unbrauchbar werden.

Wenn mit Wasser geschliffen wird, so muß der Stein gleich nach dem Schleifen gut abgewaschen und später vor der Verunreinigung mit Fettsubstanzen geschützt sein. Fette bekommt man durch Waschen mit Seife heraus.

Die mit Öl durchgetränkten belgischen Steine schleifen gleichmäßiger, darum ist es vorteilhafter, besonders die neuen Steine erst vor dem Schleifen zu putzen und nach dem Schleifen nicht zu reinigen. Es ist ja sowieso ein neues Putzen vom Staube vor dem Schleifen wieder notwendig.

Das für Schleifen gebräuchliche Olivenöl ist zu filtrieren und in besonderen Gläsern, wie sie für Säuren gebraucht werden — Glasstöpsel und darüber Glashut — staubfrei aufzubewahren. Sonst haften am Rande der Glasöffnung Staubpartikelchen, darunter auch Sand usw., die dem feinen Schliffe viel schaden.

Zum Abziehen wählt man Riemen, möglichst feinfaserige und glatte. Es wird nicht die obere mit Epithel versehene Seite der Haut benutzt, sondern die untere mit dem Bindegewebe. Von dieser unteren Seite bringt man das lockere Unterhautzellgewebe mit Glaspapier weg und kommt zum Korium mit seinen feinen engdurchflochtenen Fasern. So ein Riemen wird auf einem Holzbrette aufgezogen, als Unterlage nimmt man Filz, das überall dem ganzen Riemen entlang gleichmäßig federt und nachgibt. Das ist besonders wichtig

und notwendig für die Messer mit geradliniger Schneide, für die Mikrotommesser. So konstruierte Riemen, amerikanischer Herkunft, wenn man der Aufschrift glauben will, sind auch im Handel zu finden, sind aber sehr teuer, etwa 5 Mk. Es ist aber leicht, so einen Riemen für einige Pfennige selbst zu machen. Andere Sorten der Riemen, die z. B. zwischen zwei Punkten aufgespannt sind und keine Unterlage besitzen, federn und geben an verschiedenen Stellen verschieden nach und sind daher für die Mikrotommesser nicht zu empfehlen, für die einfachen Messer aber wohl. Wenn man als Unterlage bei diesen Riemen ein schmales Holzbrettchen benützt, wie es bei sehr gebräuchlichen Riemen der Fall ist, so wird das Federn sehr vermindert, bleibt aber im Grunde doch ungleichmäßig.

Die Riemen auf dem viel gebrauchten vierseitigen Klötzchen sind direkt auf dem Holze aufgeklebt, federn fast gar nicht und das Abziehen wird ungenügend. Darum werden diese beiden Riemensorten immer mit feiner Schmirgelsalbe beschmiert und wirken dabei eher wie ein künstlich hergestellter Schleifstein. Es ist schließlich ganz gut möglich, ein Messer ohne besondere Vorrichtung abzuziehen, wenn man den einfachen Riemen an einem Ende befestigt und das andere Ende mit der freien linken Hand hält (s. Fig. 5). Diese Hand reguliert die Nachgiebigkeit des Riemens und macht die Inklination des Messers unnötig. Ein Messer kann sogar auf dem Oberschenkel abgezogen werden, dessen Muskeln genug federn.

Im Handel findet man auch die Salben, welche aus dem feinen, in einem dicken Fette verteilten Schmirgelpulver bestehen, die schwarze ist gröber, die rote — feiner. Die Riemen, mit dieser Salbe beschmiert, können auch etwas schleifen, aber dann ist es zweckmäßiger, die Elastizität des Riemens zu beseitigen, indem man den Riemen auf eine feste Unterlage klebt. So eine Salbe kann man auch ganz gut entbehren, wenn man einen Schleifstein hat; die damit beschmierten Riemen stellen nur ein Surrogat des Steines und der Riemen dar.

Nun möchte ich das Schleifen einzelner Instrumente etwas eingehender beschreiben. Wenn die Schneide vor allem dauerhaft sein soll und die damit ausgeführte Arbeit grober Art ist, so wird das Instrument sehr steil geschliffen. Die technischen Instrumente, welche das Eisen hauen und hobeln, werden unter einem, dem rechten (90^0) nahen Winkel geschliffen. Die medizinischen Instrumente, welche die Knochen behandeln, die chirurgischen Meißel und die zahnärztlichen Instrumente schleift man unter einem Winkel von etwa 60^0 Grad und braucht nicht abzuziehen. Die Scheren werden auf dem

Drehsteine unter etwa 45° geschliffen. Die Scheren sowie die Sägen werden meist recht befriedigend von den Schleifern behandelt und bleiben lange Zeit scharf genug. Die meisten chirurgischen Messer bekommen ganz guten Schliff auf dem Schiefersteine unter 20 bis 30° und sind noch nachher abzuziehen. Von den Mikrotommessern ist oben genug gesagt. Das einfache Rasiermesser wird auch ebenso flach geschliffen, wenn es aber nicht die Schnitte zum Mikroskopieren machen, sondern die Haare rasieren soll, so wird es ziemlich steil abgezogen. Nur dann kann es reiz- und schmerzlos rasieren, da es an den Haaren nicht zieht. Es kann jetzt die Haare nur dann schneiden, wenn sie es nur quer trifft. Ein flach abgezogenes Rasiermesser schneidet die Haare auch unter einem spitzen Winkel an, zieht sie längs aus und macht dadurch das Rasieren schmerzhaft. Diese Unbequemlichkeiten lassen sich auch bei den Experimenten merken, wenn die zarte Haut kleiner Tiere abrasiert sein soll. Die Haut wird dann oberflächlich beschädigt, sehr blutreich und sogar mit kleinen Blutungen durchsetzt, was für die folgende Operation, sowie Heilung der Wunde keine Vorteile bietet.

Es bleiben mir noch ein paar Worte über das Konservieren der scharfen Schneide zu sagen.

Wenn das Messer trocken und unerwärmt bleibt, so schützt man seine Schneide vor etwaiger Oxydation durch das Eintauchen in geschmolzenes Paraffin oder Fett. Beim Kochen chirurgischer Messer wird ihre Schneide durch das Anstoßen gegen andere Instrumente leicht beschädigt. Darum ist es empfehlenswert, ihre Klingen vorher in Watte einzuwickeln, oder, wenn es sich bloß um ein Messer handelt, es allein in einem Reagenzglase auf einer Watteunterlage auszukochen. Aus den Angeboten in Zeitschriften weiß ich, daß in England dafür besondere Schlitten mit federnden Ösen konstruiert sind. Die Ösen umfassen das Messer am Halse und am Handgriff wie im Etui fest und das Ganze wird im Reagenzglase ausgekocht.

Ich habe hier auch das Schleifen der dem Mikroskopiker scheinbar unnötigen chirurgischen Instrumente besprochen, aber jetzt gewinnen viele Biologen ihr Material für mikroskopische Studien erst durch das Experiment und bei diesem haben sie alle möglichen chirurgischen Instrumente nötig, sie müssen diese Instrumente auch sterilisieren und ihre Tiere auch eventuell tadellos abrasieren.

[Eingegangen am 29. März 1909.]

Der Suchtisch II (Perquirator).

Von

Prof. Dr. Arthur Meyer

in Marburg.

Hierzu zwei Textabbildungen.

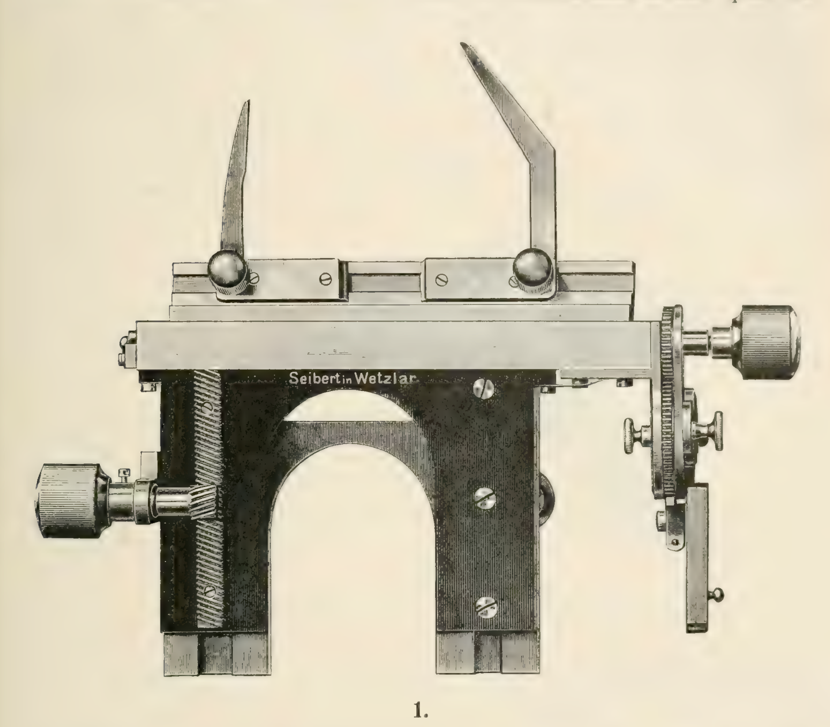
Ein schnelles und sicheres vollständiges Durchsuchen eines mikroskopischen Präparates läßt sich bei Führung des Präparates mit der Hand, ja selbst bei Benutzung eines gewöhnlichen Kreuztisches kaum erreichen. Dieses veranlaßte mich schon 1900 einen einfachen Kreuztisch bauen zu lassen, der das Objekt automatisch um eine Sehfeldbreite verschiebt. Dieser als Suchtisch I von W. u. H. Seibert in Wetzlar (Preisliste 1909, No. 71) für 36 Mk. zu beziehende Apparat ist von mir schon 1901 (A. Meyer, Die Grundlagen und die Methoden der mikroskopischen Untersuchung von Pflanzenpulvern, Jena 1901, p. 246) empfohlen und bezüglich seiner Anwendung erläutert worden, aber erst 1908 (Archiv d. Pharmazie Bd. CCXLVI, 1908, p. 532) abgebildet und beschrieben worden.

Dieser einfache, in erster Linie für die Mikroskope von Seibert bestimmte Suchtisch I ist auch zur quantitativen mikroskopischen Untersuchung von Pulvergemengen, vorzüglich von Pflanzenpulvern nach meiner Methode, welche im Archiv der Pharmazie an der angeführten Stelle und in der Zeitschrift für die Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel sowie der Gebrauchsgegenstände (1909) beschrieben worden ist, anwendbar.

Vollkommener und für beliebige Mikroskope und Linsenkombinationen passend, ist der ebenfalls auf meine Veranlassung von Seibert in Wetzlar gebaute Suchtisch II (Der Perquirator), den Seibert unter No. 72 für 100 Mk. in seiner Preisliste anbietet. Ich gebe eine kurze Beschreibung des Instrumentes.

Der Perquirator ist im wesentlichen ein Kreuztisch mit zwei zueinander senkrechten Bewegungen, und kann auch genau wie ein anderer Kreuztisch gebraucht werden, wenn der Knopf *F* (Fig. 2) in die Mittelstellung gebracht wird, so daß das den Suchtisch auszeichnende Radgetriebe ausgeschaltet ist.

Die Bewegung von vorn nach hinten wird auch wie bei den gewöhnlichen Kreuztischen durch ein Triebwerk ausgeführt, die Spindelschraube (*S*) aber, welche die seitliche Bewegung bewirkt, ist mit einer Vorrichtung, welche aus zwei Zahnrädern besteht, verbunden, die es ermöglicht, das in den Apparat eingefügte Präparat durch Bewegung des Hebels *H* um ein bestimmtes Stück quer zu

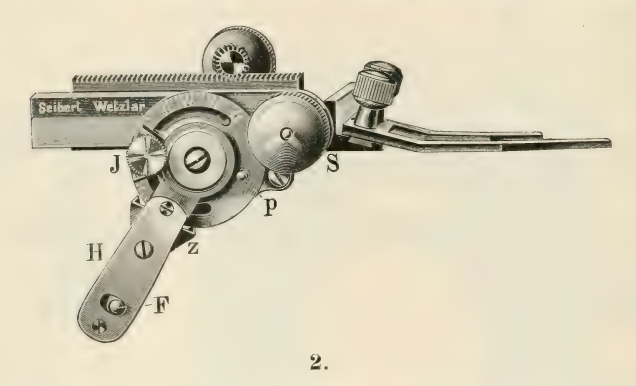


1.

Suchtisch II (Perquirator), ein beweglicher Objekttisch mit genauer Einstellung auf den Durchmesser des Sehfeldes beliebiger Linsen des Mikroskopes. Zu beziehen von W. u. H. Seibert in Wetzlar.

verschieben. Durch verschiedene Feststellung des auf einer graduierten Kreisscheibe beweglichen Index *J* (Fig. 2) kann die Wirkung des Hebels so reguliert werden, daß er zwischen 1 bis 35 Zähne greift. Die Zahnräder sind nun so im Verhältnis zur Steigung der Schraube hergestellt, daß die Verschiebung um einen Zahn immer 0·1 mm beträgt. So ist es möglich, den Apparat annähernd für jedes beliebige Sehfeld, dessen Durchmesser zwischen 0·1 und 3·5 mm liegt, einzustellen, so daß dann bei jeder vollständigen Auf- und

Abwärtsbewegung des unteren Hebels das Objekt fast genau um die Sehfeldbreite seitlich fortbewegt wird. Wenn die Sehfeldbreite gemessen ist, so kann man die Einstellung durch Stellen der oberen scharfen Kante des Index auf die betreffende, die Millimeter bezeichnende Zahl der Kreisteilung ohne weiteres ausführen. Ist der Durchmesser des Sehfeldes nicht bekannt, so kann man die Einstellung folgendermaßen ausführen. Man klemmt einen Objektträger mit irgendeiner kleinen Marke, eventuell auch einen Objektmikrometer in den Apparat ein, und stellt die Marke so ein, daß sie genau von der linken Grenzlinie des Sehfeldes getroffen wird. Man dreht nun zuerst den Hebel *H* ganz nach vorn und unten, bis er den Stift *p* (Fig. 2) berührt, stellt dann den anfangs in die mittlere



2.

Suchtisch II (Perquirator) von der Seite gesehen.

Stellung gedrückten Knopf (*F*), von dem wir noch reden werden, rechts, lockert das Schräubchen des Index und schiebt den letzteren dicht an den Hebel *H* heran. Nun bewegt man vorsichtig den Hebel *H* nach sich zu, indem man zugleich im Mikroskope die Bewegung der Marke verfolgt. Hat diese die gegenüberliegende Grenze des Sehfeldes erreicht, so klemmt man den Index fest, und hat damit den Hebelspielraum für die Sehfeldbreite so genau eingestellt, wie es die Räder gestatten. Handelt es sich nur um die Verwendung des Perquirators zum Absuchen des Präparates, so ist diese Einstellung stets völlig genau genug. Wenn quantitative Bestimmungen mit dem Apparate ausgeführt werden sollen, so kann man die eventuell bleibende Differenz, die geringer als 0·1 mm sein muß, durch Ein- oder Ausschiebung des Tubus oder vorteilhafter durch eine im Okular angebrachte q u a d r a t i s c h e I r i s b l e n d e ausführen, die man nach-

träglich auf die Größe der eingestellten Verschiebung einstellt. Das Okular mit der auch an sich für die quantitativen Bestimmungen sehr vorteilhaften Irisblende ist von Seibert für 20 Mk. zu beziehen. Des weiteren ist nun noch folgendes zu bemerken. Man sieht auf dem starken Hebelarm *H*, welcher zum Fortschieben des Zahnrades bestimmt ist, ein kleines Knöpfchen *F*, welches mit einem im Hebel *H* verborgenen kleinen federnden Hebel in Verbindung steht. Letzterer schnappt in drei Ruhelagen ein. In der mittleren sind die beiden Zähne *z* der hinter dem Hebel *H* liegenden Sperrvorrichtung vom Zahnrad abgehoben, so daß der Hebel *H* unwirksam ist. Stellt man das Knöpfchen *F* nach rechts, so greift der eine Haken *z* der Sperrvorrichtung in das große Zahnrad ein und bei jeder voll ausgeführten Bewegung des Hebels *H* von unten vorn nach oben hinten wird das Objekt, wenn der Index auf Sehfeldgröße eingestellt ist, um einen Sehfelddurchmesser nach rechts verschoben. Stellt man das Knöpfchen *F* in die linke Ruhelage, so bewegt sich das Objekt nach links.

Man sieht, daß sich die Konstruktion des Apparates an die des von Dr. Engel konstruierten Kreuztisches mit automatischer Einstellung (Diese Zeitschr. Bd. XXV, 1908, p. 60) anschließt, den Leitz in Wetzlar baut. Dieser ist zum Absuchen der Präparate geeignet, gestattet jedoch nicht das Präparat jedesmal um eine Sehfeldbreite weiter zu schieben.

[Eingegangen am 15. Mai 1909.]

Über ein neues kleines Minot-Mikrotom, das noch für feinste histologische und embryologische Arbeiten ausreicht, und über einen neuen Mikroskopiertisch.

Von

Dr. Max Wolff
in Bromberg.

Hierzu fünf Textabbildungen.

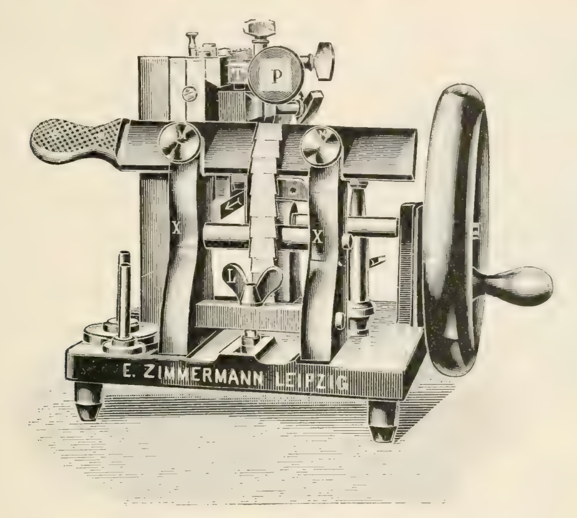
In einer Mitteilung „Über Gefriermethoden und Gefriermikrotome usw.“ hatte ich vor kurzem in dieser Zeitschrift[1] auf die außerordentlichen Vorzüge des Minot-Zimmermannschen Mikrotoms, die es vor allen anderen Konstruktionstypen auszeichnen, mit Nachdruck hingewiesen, da sie mir speziell für Gefrierarbeiten bisher noch nicht genügend gewürdigt zu sein schienen.

Ich nahm dabei Veranlassung, mich auch über einige andere Instrumente zu äußern, die zwar erhebliche prinzipielle Nachteile ihrem ganzen Konstruktionstyp nach bieten, von denen ich aber immerhin eines, das bekannte Jungsche Studentenmikrotom (in seiner neuen Form) bei bescheidenen Ansprüchen in Anbetracht seines relativ sehr geringen Preises und seiner hinsichtlich der Methoden universalen Verwendbarkeit für weniger bemittelte Mikroskopiker doch nach wie vor als brauchbar und empfehlenswert bezeichnen zu müssen glaubte.

Doch die Vorzüge der Minot-Modelle erschienen mir so erheblich, der Preisabstand dagegen des bisher gebauten kleinsten Instrumentes von Zimmermann (Modell I, s. Fig. 1) von den billigsten, noch für feinere Arbeiten überhaupt verwendbaren Modellen anderer Firmen war als so wenig beträchtlich zu bezeichnen (Preis des Zimmermannschen Modell I 190 Mk.; eines — weit weniger leistungsfähigen — Schaukelmikrotoms von R. Jung, Heidelberg 141·75 Mk.), daß ich

[1]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXV, 1908, p. 169—184.

es unternahm, die Konstruktion eines Modelles auszuarbeiten, das unter Wahrung aller Vorzüge des Minot-Zimmermannschen Konstruktionstyps, — vor allem sämtlicher Bestandteile der Konstruktion des Modell I, die die Exaktheit der von ihm geleisteten Arbeit bedingen, — doch in allem übrigen soweit vereinfacht sein sollte, daß seine Herstellung zu einem für weniger bemittelte Private, kleine Institute usw. leicht zu erschwingenden Preise (der es eventuell größeren Instituten gestattet, den fortgeschritteneren Praktikanten



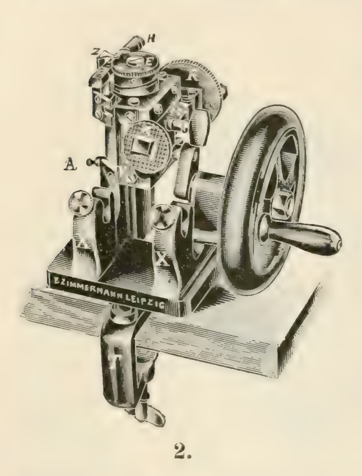
1.

Mikrotom Minot-Zimmermann, Modell I: Grundplatte 17 × 17 cm, Gewicht (netto) 8·050 kg, maximale Schnittgröße 3·3 bis 4·2 cm × 5·5 cm, maximale Blockhöhe 3·5 cm.

eigene Instrumente in die Hand zu geben) möglich wäre, der sich jedenfalls in der Höhe von nicht viel über 100 Mk., — wenn möglich weniger, — bewegen sollte.

Als ich meine Vorschläge und Zeichnungen Herrn E. Zimmermann unterbreitete, erfuhr ich, daß er und seine Mitarbeiter bereits denselben Gedanken durch ein anderes Modell zu verwirklichen im Begriff waren. Da dies Modell jedoch, wie mir später mitgeteilt wurde, nicht den von der Firma gestellten Anforderungen entsprach, wurde unter Benützung meiner Entwürfe zum Bau eines neuen Instrumentes geschritten, das allen Anforderungen, die man an ein Präzisionsinstrument stellen muß, entspricht. Ich betone aber, daß einzelne mir ganz

besonders wertvoll erscheinende Konstruktionsteile, wie z. B. die ganz neue Einrichtung, die die automatische Einstellung der Schnittdicke bewirkt, ausschließliches geistiges Eigentum der Firma ZIMMERMANN sind, die den Gebrauchsmusterschutz für das Instrument angemeldet hat. Ich habe das Mikrotom (vgl. Fig. 2) eingehend in meinem Laboratorium geprüft und möchte, indem ich in nachfolgendem eine genaue Beschreibung seiner Leistungsfähigkeit und seines Baues gebe, es als noch für feinste histologische und embryologische Arbeiten ausreichendes Paraffin- und Gefriermikrotom allen mit dem Mikrotom arbeitenden Biologen, nicht zuletzt den Medizinern, warm empfehlen.



2.

Kleines Mikrotom MINOT-ZIMMERMANN für Paraffin-u. Gefrierschnitte: Grundplatte 9·5×9 cm, Gewicht (netto) 3·325 kg, maximale Schnittgröße 2·5 bis 3·5 cm ×3·2 cm, max. Blockhöhe 2 cm.

Das Instrument[1] kostet komplett und gebrauchsfertig (mit Messer) für die Paraffinmethode ausgerüstet in elegantem Schränkchen (mit Tragbügel, nach Art der Mikroskopschränke) 87·70 Mk., mit Chloräthylgefrierkammer und einer Flasche Chloräthyl, also für Paraffin- und Gefriermethode ausgerüstet, 98·20 Mk.

Ohne Messer[2], Gefriertisch und Chloräthyl kostet das neue Mikrotom nur 85 Mk.

Da das Mikrotom, trotz seiner außerordentlich kräftigen und stabilen, aber sehr kompendiösen Bauart, noch nicht ganz $3^1/_3$ kg (genauer, — ohne Kittplatte und Messer, — 3325 g) wiegt, also für ein Instrument, das noch 5 μ-Schnitte durch ganze Hemisphären 6monatlicher mensch-

[1]) Zu beziehen von der Firma E. ZIMMERMANN, Leipzig, Emilienstr. 21.

[2]) An Stelle der Rasiermesser von 5 mm Klingenstärke führt die Firma jetzt zwei sehr empfehlenswerte und sehr preiswerte „Normalmesser“ mit 25 mm breiten, 7 resp. 8 mm starken und 8 resp. 12 cm langen Klingen. Die Messer genügen allen Anforderungen, die man an größere Mikrotommesser zu stellen pflegt, obgleich sie nur 4·— resp. 9·75 Mk. kosten. Die schwarzen Schalen des kleineren und die abnehmbaren Metallschalen des größeren Messers ersparen ein besonderes Etuis und Griffe zum Abziehen. Die Messer stellen also eine Art Verschmelzung von Rasier- und Mikrotommesser dar.

licher Foeten liefert (Schnittgröße: 32×23 mm), außerordentlich leicht und bequem transportabel ist, so haben wir damit, denke ich, endlich das Reisemikrotom, das uns in einer solchen Leistungsfähigkeit bis jetzt nicht zu Gebote stand, gefunden. Ich bemerke noch, daß das Instrument in seiner oben erwähnten kompletten Ausrüstung für beide Methoden und in seinem Schränkchen verpackt nur $5^1/_3$ kg wiegt, also ebensoviel resp. weniger als ein komplettes Jungsches Studentenmikrotom, das laut neuestem Katalog „4 bis 6 kg" mit Verpackung wiegt.

Die Dimensionen des Schränkchens, in dem das Instrument nach Abnehmen der Kurbel durch seine Tischklemme mit einem Griffe versandfähig sicher zu befestigen ist, und das außerdem die ganze sonstige Ausrüstung aufzunehmen vermag, sind 17×18×28 cm (breit×tief×hoch).

Größe, Gewicht und sonstige Ausmessungen des neuen Instrumentes verhalten sich zu denen des Minot-Modelles I wie folgt:

	Kleines Mikrotom	Modell I
Grundplatte:	9·5×9 cm	17×17 cm
Höhe des Instrumentes über der Tischfläche:	14 cm	18 cm
Gesamte auf dem Tisch beanspruchte Fläche (mit Rad und Kurbel):	15×16 cm	20×24 cm
Gewicht (netto):	3·325 kg	8·050 kg
Schlittenhub:	4 cm	4·5 cm
Nutzbarer Messerhalterabstand:	3·2 cm	5·5 cm
Trieb der Mikrometerschraube:	3·5 cm	3 cm
Maximale Distanz: Kittplattenfläche — Schneide:	2 cm	3·5 cm
Maximale Schnittgröße:	2·5 bis 3·5 cm×3·2 cm	3·3 bis 4·2 cm×5·5 cm

Die von mir mit dem „Kleinen Mikrotom" geschnittenen Blöcke, die tadellose 5 μ-Serien gaben, hatten eine Schnittfläche von 3·2 cm (parallel der Schneide)×3·5 cm (senkrecht dazu), — das ist die größte Schnittfläche, die das Instrument bei Einstellung auf 5 μ

noch bewältigt, — 3·2 × 2·3 und 3 × 2·2 cm. Die eingebetteten Objekte waren (in derselben Reihenfolge): Kopf einer jungen Ratte, und zwar ohne Haut, sagittal geschnitten, als ein recht schwieriges Objekt; weiter die ganze Hemisphäre eines 6monatlichen menschlichen Embryos, frontal geschnitten, und endlich die Calcarina des erwachsenen Menschen.

Die Schnitte waren absolut gleichmäßig und die Schnittfläche der Blöcke spiegelglatt, ohne die bekannten feinen, der Schneide parallellaufenden Wellungen, die stets Zeichen dafür sind, daß Messer oder Objekt beim Schneiden nachgaben, und zwar so, daß eines von beiden in feine Vibrationen geriet.

Ich mache also nochmals darauf aufmerksam, daß der Minot-Zimmermannsche Mikrotomtyp in Beziehung auf äußerste Gleichmäßigkeit der Bewegung auch beim Schneiden von geradezu unverhältnismäßig großen Schnitten (man vergleiche Schnittgröße und Ausmessungen des angewandten Instrumentes in obiger Tabelle!) von keinem anderen, zum Schneiden größerer Objekte eingerichteten Typ erreicht wird (einzig und allein das bekannte Brodmannsche Mikrotom, das der vortreffliche Berliner Hirnanatom für seine Riesenschnitte konstruiert hat, arbeitet ebenso präzise nach meinen Erfahrungen, ist aber erheblich teurer als das der Blockgröße nach entsprechende, — d. h. noch größere, in maximo 11·5 × 19·5 cm-Schnitte liefernde Zimmermannsche Modell VI). Die Schlittenmikrotome leisten Ähnliches nur in ihren größeren und entsprechend teuren Modellen und lassen selbst dann noch bei hartem Material im Stich. Ich hatte meine Objekte, mit denen ich die oben erwähnten Versuche anstellte, in 60grädiges Paraffin eingeschmolzen.

Die maximale Länge des Schnittes ist bei Benutzung der automatischen Schnitteinstellung größer, wenn die geringste Schnittdicke gewählt wird, — kleiner, wenn man auf größere Schnittdicke eingestellt hat, wie das auch in der oben gebrachten Tabelle ausgedrückt ist. Schaltet man die automatische Einstellung aus, so kann man natürlich auch statt der sonst zulässigen Schnittlänge (die bei dem kleinen Mikrotom für 30 μ 2·5 cm beträgt) die größte überhaupt zulässige (3·5 cm) schneiden. Man stellt dann eben freihändig ein. Es ist das eine Eigentümlichkeit aller Mikrotome mit automatischer Vorwärtsbewegung der Mikrometerschraube. Sie beruht, wie leicht einzusehen, darin, daß der bewegte Schlitten, — je nach Konstruktion Objekt- oder Messerschlitten, — erst die Einstellung des Schnittes (Vorwärtsbewegung der Mikrometerschraube) bewirkt

haben muß, bevor der Block die Schneide des Messers berührt. Ein Teil des Hubes wird also für die Einstellung verbraucht und geht für den eigentlichen Schnitt verloren, und zwar um so mehr, je weiter die Sperrklinke den gezähnten Kopf der Mikrometerschraube erst drehen muß, bevor sie von der, nach welchem Prinzip auch immer konstruierten Anschlagvorrichtung freigegeben wird.

Jedenfalls wird ein Instrument, das bei automatischer Einstellung einer Schnittdicke von 5, 10 und 15 μ rund 3×3 cm große Schnitte in Bändern liefert, für alle feineren Arbeiten des Zoologen, Histologen, Embryologen, Arztes, des Botanikers usw. vollkommen ausreichen. Sogar der Neurologe wird das Instrument außer für seine feineren histologischen noch für die meisten gröberen anatomischen Studien mit vollstem Nutzen gebrauchen können. Die Oblongata kann noch in toto quer geschnitten werden, außerdem andere recht große Stücke, ganze Hemisphären nicht zu großer Gehirne, wie oben berichtet wurde.

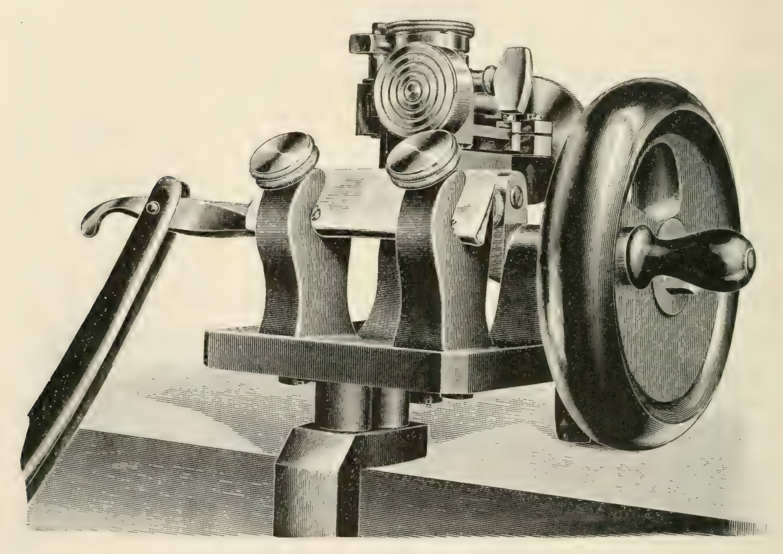
Dabei ist es sehr erheblich für das Arbeiten, daß das „Kleine Mikrotom“ (das gilt auch von den größeren Modellen) keineswegs, wie den automatischen Mikrotomen sonst nicht mit Unrecht vorgeworfen wird, den Arbeitenden zwingt, alle Schnitte mit großer Schnelligkeit herunter zu hobeln. Will man aus irgendwelchen Gründen die Schnitte einzeln abnehmen und sehr langsam und behutsam schneiden, so ist das mit diesem Instrument genau so bequem und sicher auszuführen, wie mit dem besten, mit mechanischer (Messer-) Schlittenführung ausgerüsteten Schlittenmikrotom. Das hat seinen Grund darin, daß der Schlitten vom Schwungrad höchst genau ausbalanciert wird; der Ansatz für den Handgriff und die Exzenterkurbel sind um etwa 80^{0} versetzt und der Handgriff hat obendrein die günstigste Stellung (für das Beherrschen der Bewegung) gerade dann, wenn das Messer den Block durchschneidet.

Man kann also so langsam schneiden wie man will. Es ist ferner aus diesem Grunde möglich, bei freihändiger Einstellung der Mikrometerschraube noch Schnitte unter $2\,^1/_2$ μ von jeder Größe, die Objekt und verwandtes Paraffin, Zimmertemperatur usw. erlauben, ebenso aber auch Schnitte in jeder beliebigen Dicke über 30 μ herzustellen.

Zieht man noch in Betracht, daß das Instrument das beste Gefriermikrotom ist, das man sich wünschen kann,

so muß man in der Tat sagen, daß es eine Lücke im Instrumentarium des Biologen ausfüllt, die mancher, wie ich, bisher sehr oft schmerzlich empfunden hat. Man wird es daher wohl verstehen können, wenn ich, unbeschadet der Zuverlässigkeit und Objektivität meiner Prüfung, mein Urteil über das Instrument mit einiger Begeisterung abgebe.

Nachdem ich die äußeren Dimensionen und die Leistungsfähigkeit des Instrumentes charakterisiert habe, gehe ich zur eigent-



3.

Kleines Mikrotom Minot-Zimmermann mit Gefrierkammer. Geschnitten wurde mit einem kräftigen Walbschen Rasiermesser.

lichen Beschreibung seiner Konstruktion und einiger kleiner Nebenapparate über.

Die Grundplatte des Instrumentes ruht auf drei Füßen, so daß sich ihre Oberfläche etwa $3^1/_2$ cm über der Tischplatte befindet. Der an der Vorderkante (unter dem Messerhalter) befindliche Fuß wird von dem Oberteil der Tischklemme gebildet, die an die Grundplatte angegossen ist und es gestattet, das Instrument mit einem einzigen Griff unverrückbar fest auf dem Arbeitstische aufzustellen. Mit derselben Klemme wird das Instrument in seinem Schränkchen, das einen kräftigen Querboden hat, so sicher befestigt, daß es ohne

weiteres transportiert und verschickt werden kann. Die Schränkchen sind übrigens von jetzt ab so eingerichtet, daß die Türe sich an der Breitseite befindet, und daher der Handgriff vor dem Einschieben des Instrumentes nicht abgenommen zu werden braucht.

Der Grundplatte sind vorn die beiden sehr massiven Messerhalterpfeiler angegossen, — bei meinem Modell sind sie mit je zwei starken Schrauben befestigt, — seitlich erhebt sich der noch bedeutend massiver gehaltene Lagerblock der Achse des Antriebrades, der ebenfalls der Grundplatte angegossen ist.

Im übrigen stellt die Grundplatte nicht eine volle quadratische Tafel dar. Hinter den Messerhalterpfeilern und seitlich vom Lagerblock befindet sich vielmehr eine ganz beträchtliche Aussparung, in der der Vertikalschlitten und die Exzenterkurbel auf und nieder gehen. Das an der, dem Lagerblock entgegengesetzten Seite der Aussparung stehende Vertikalschlittenprisma ist an dem Prismenhalterpfeiler fest angeschraubt, der ebenfalls der Grundplatte angegossen ist. Durch diese Anordnung ist der sehr große, 4 cm betragende Exzenterhub ermöglicht, der wieder, bei kompendiösesten Ausmessungen, sehr lange Schnitte zu fertigen erlaubt, weil das Prisma des Vertikalschlittens nun bis unter die Grundplatte geführt und ihm somit eine ausreichende Länge gegeben werden konnte. Auch Messerhalterpfeiler (und der Lagerblock natürlich auch) sind dadurch sehr niedrig gehalten worden und haben mithin eine weit über ihre wirkliche Beanspruchung hinausgehende Stabilität erhalten.

Die Messerhalterpfeiler sind genau so ausgerüstet, wie bei den größeren Instrumenten, d. h. die maulartigen Einschnitte am oberen Ende, die das Messer aufnehmen, tragen je zwei Schrauben, eine vordere größere, eine hintere feinere, von denen die vorn, zum bequemen, leichten Drehen doppelt gerändelte, allein das Messer zu fixieren hat, während man durch Verändern der Stellung der hinteren Schraube die Neigung der Schneide zur Schnittfläche auf das subtilste regulieren kann. Die Regulierbarkeit der Neigung des Messers ist Bedingung dafür, daß man unter allen Umständen mit querstehendem Messer (und zwar mit Messern von beliebiger Schliffazette!) von allen Objekten gute Schnitte (einzelne, wie Bänder, dicke wie feinste!) erhält. Die Regulierbarkeit der Neigung eines querstehenden Messers ist in dieser Hinsicht wertvoller, als die Möglichkeit, dasselbe Resultat durch Schrägstellung des Messers (also nur für einzelne Schnitte) zu erreichen. Die Schrägstellung des Messers wird überflüssig. — In dieser Beziehung

ist das neue, wie die übrigen Minot-Mikrotome, den meisten automatischen (z. B. dem Schaukelmikrotom) und den meisten Gefrier- und Schlittenmikrotomen überlegen.

Die Messerhalter haben 3·5 cm Abstand. Dieser Abstand (der praktisch durch die Köpfe der Stellschrauben auf 3·2 cm verringert wird) bedingt die Breite des größten Schnittes, der mit dem Instrument hergestellt werden kann. Da alle schon beschriebenen Teile, ebenso aber auch der Vertikal- und der Objektschlitten eine weit über ihre wirkliche Inanspruchnahme hinausgehende Stabilität erhalten haben, könnte es befremden, daß durch die Wahl eines relativ geringen Pfeilerabstandes eigentlich die Leistung des Instrumentes nicht voll ausgenutzt werden kann. Nun, ein anderer Punkt schien hier wieder wichtiger zu sein: daß es nämlich bei dem geringeren Abstand der Pfeiler (und im allgemeinen wird man ja keine größeren Schnitte, als $3 \cdot 2 \times 3 \cdot 5$ cm herstellen wollen, wenigstens ganz sicher nicht bei feineren Arbeiten) möglich ist, noch relativ kurze Messer in ihrer ganzen Länge ausnutzen zu können. Ich glaube, daß gerade die Kreise, denen in erster Linie das neue Instrument sich nützlich erweisen soll, hierauf größeren Wert legen werden, als auf die Erzielung noch größerer Schnitte. An und für sich würde das kleine Mikrotom, wenn die Pfeiler hart an die Kanten der Grundplatte gerückt würden, Schnitte von $5 \times 3 \cdot 5$ cm Größe bequem hergeben können.

Der Vertikalschlitten, der sich an dem Vertikalprisma auf und ab bewegt, unterscheidet sich hinsichtlich seiner, die Präzision der Leistung bedingenden Einrichtungen in nichts von dem Schlitten des größeren Modells, dem es auch in den Dimensionen nur wenig nachsteht.

Der Schlitten ist schwalbenschwanzförmig eingeschliffen. Gangungleichheiten sind bei der sorgfältigen Arbeit unmöglich. Eine dauernd gleichmäßig-zwangsläufige Bewegung ist dadurch garantiert, daß die eine Schlittenleiste dem Schlitten fest angegossen, die andere für sich nach vollendetem Einschleifen durch zwei starke Schrauben fixiert ist, und zwar so, daß nicht der geringste Zwischenraum zwischen dem Prisma und den Laufflächen des Schlittens besteht. Auch die minimalste Abnutzung würde hieran nichts ändern, da zwei rechtwinklig zu den schon erwähnten stehende Schrauben (Nachstellschrauben) die Stellung der aufgeschraubten Schlittenleiste so zu justieren gestatten, daß die Gleichmäßigkeit und völlige Zwangsläufigkeit der Bewegung stets erhalten werden kann.

In derselben Weise ist der Objektschlitten eingerichtet, dessen Bewegung durch die Mikrometerschraube in horizontaler Richtung erfolgt.

Der Objektschlitten ist nur durch das Kopfstück, das den Objekthalter (Kittplatte, Objektklammer oder Gefrierkammer) aufnimmt, von dem der größeren Modelle unterschieden. Das mit Klemmschraube versehene Halterstück ist nämlich absichtlich wesentlich einfacher gehalten, was natürlich die Herstellungskosten herabmindert und zugleich das Instrument kompendiöser zu bauen gestattet. Der Verzicht auf die Möglichkeit, die Kittplatte noch zu anderen Ebenen, als zu der Schnittebene, parallel orientieren zu können, schien mir um so angezeigter, als die beste und sicherste Orientierung des Objektes doch stets während des Einbettens, im noch geschmolzenen und daher durchsichtigen Paraffin vorgenommen, bei der Gefriermethode aber stets ebenfalls ein Orientieren des schon gefrorenen Objektes vermieden wird. Der Geübte wird also sehr gut einer mehrachsigen Orientierungsvorrichtung entraten können, und der Anfänger sollte von vornherein lernen, und wird auch wohl in den meisten Laboratorien stets dazu angehalten, seine Objekte gleich beim Einbetten so zu orientieren, wie sie nachher geschnitten werden sollen.

Die den Objektschlitten in seiner Anfangstellung von der Messerschneide trennende Distanz beträgt bei steil zum Block stehendem Messer (von üblicher Breite), also in minimo, 2·5 cm; da die Kittplatten, die dem Instrument beigegeben werden, eine Höhe von 0·5 cm haben, können Blöcke von 2 cm maximaler Höhe geschnitten werden. Auch das dürfte für alle feineren und die meisten gröberen Arbeiten genügen. Die Kittplatten werden, beiläufig bemerkt, auch in einer sehr empfehlenswerten Form mit angepaßten Einbetträhmchen geliefert. Für die Objektklammer und die Gefrierkammer verringert sich die maximale Blockhöhe um 1 cm. Freilich werden Blöcke zum Gefrieren kaum über 0·5 cm hoch genommen werden. Und auf Holz oder gar Kork aufgekittete Blöcke sollte man auch stets so niedrig wie möglich halten, in Anbetracht ihrer doch ohnehin an Starrheit recht zu wünschen übriglassenden Unterlage. Die Blöcke können von Anfang bis zu Ende ohne Unterbrechung geschnitten werden, da die Mikrometerschraube sehr lang, — länger, als die maximale Blockhöhe es erfordert, — gewählt worden ist. Das Gewinde ist 3·5 cm lang.

Das am Vertikalschlitten durch kräftige Verschraubungen befestigte Kugellager der Mikrometerschraube, — ebenso die am Objekt-

schlitten befestigte Mutter, — ist durch einen mit Nachstellschraube versehenen Schnitt geteilt. Also auch hier ist eine schädliche Abnutzung unmöglich gemacht worden. Das Kugellager ist mittels der erwähnten Schraube stets so eingestellt zu halten, daß einige Reibung besteht, damit die Sperrklinke das Zahnrad, das den Kopf der Mikrometerschraube bildet, nur vorwärtsnehmen kann (bei Beginn der Abwärtsbewegung des Vertikalschlittens) und es nicht beim Darüberhingleiten (während der Aufwärtsbewegung) etwa wieder zurückdreht. Hierauf ist bei allen Mikrotomen mit automatischer Schnitteinstellung zu achten, gleichviel welcher Konstruktion sie sind. Ich erwähne diesen Punkt nur, weil man ihn auffallend oft übersieht, und dann unberechtigterweise darüber Klage geführt wird, daß das Instrument „Schnitte ausläßt“. Das heißt: es gibt natürlich auch Mikrotome, gewöhnlich Nachahmungen guter Modelle, die infolge ungenauer Arbeit des Zahnrades ungleiche Schnitte liefern oder solche ganz auslassen.

Die Zahnscheibe ist mit einer kleinen Kurbel versehen, um zu gröberer Einstellung des Blockes den Objektschlitten (zur Schonung der Klinke wird diese zuvor ausgeschaltet) schnell vor- und zurückführen zu können. Beim Zurückführen des Objektschlittens ist darauf zu achten, daß, noch ehe die Mikrometerschraubenmutter das Kugellager berührt, der Bewegung des Schlittens durch die vordere Fixierungsschraube der Objektschlittenleiste halt geboten wird, da dann das Halterstück an sie anstößt. Die Differenz beträgt etwa 0·5 mm. Da sie sonst leicht (eventuell zum Schaden von Gewinde und Mutter) übersehen werden könnte, wird jetzt oben auf der Führungsleiste und auf dem ihr zugewandten Teil des Halterstückes je eine Marke angebracht. Der Schlitten darf also nur soweit zurückbewegt werden, bis sich die Marken gegenüberstehen.

Die Drehung der Zahnscheibe um einen Zahn entspricht einer Vorwärtsbewegung des Objektschlittens um 5 μ. Da die Zähne etwa 1·3 mm Abstand voneinander haben, so kann man bei freihändiger Einstellung der Schnittdicke sehr gut noch (durch Anvisieren der vertikalen inneren Kante des zum automatischen Einstellungsmechanismus gehörigen Exzenterstückes, das die Sperrklinke vom Rade abhebt) $^1/_2$, $^1/_3$ und sogar noch $^1/_4$ Zahnbreite beim Vorwärtsdrehen der Scheibe (das natürlich dann besser durch Fassen der gezähnten Peripherie, als etwa mit der Kurbel erfolgt) abschätzen, *mithin freihändig noch sehr gut* 2·5 μ, 1·7 μ *und* 1·2 μ *einstellen, schneiden.*

Das dürfte aber, da man nur sehr selten so dünne Schnitte mit der Schnelligkeit, die bei automatischer Einstellung prinzipiell möglich wäre, schneiden wollen und, — der Beschaffenheit des Objektes nach, — können wird, vollkommen genügen, insbesondere, da man so feine Schnitte gewöhnlich einzeln behandeln wird, so daß es kaum ins Gewicht fällt, wenn es allerdings schon von der Geschicklichkeit stark abhängt, daß Bänder, — die man natürlich auch bei freihändiger Einstellung dieser feinsten Schnitte noch sehr gut erhält —, dann noch dieselbe mathematische Übereinstimmung der Dicke jedes einzelnen Schnittes aufweisen, die bei automatischer Einstellung (wie sie die größeren Modelle der Zimmermannschen Mikrotome haben, die bis 1 μ [Modell II], ja sogar bis $^1/_2$ μ [Modell III und das große Modell V] heruntergehen) solcher minutiösen Schnitte erreicht wird und für differenzierende Färbungen erwünscht sein kann. Allerdings weiß jeder, der gezwungen gewesen ist, zu solchen Schnitten seine Zuflucht zu nehmen, wie sehr die Launen minimaler, schwer zu beherrschender Temperaturschwankungen, die fortwährend die Länge des Blockes verändern, auch bei automatischem Einstellen der Schnittdicke das Schneiden eines absolut gleichmäßigen 1 μ-Bandes erschweren können, obgleich das Instrument vollkommen exakt arbeitet. Es dürfte also wohl meistens genügen, daß man mit unserem kleinen Mikrotom überhaupt noch so feine Schnitte herstellen kann.

Dicht unter dem Objektschlitten und parallel zu seiner Bahn befindet sich die Querführung für den Schieber des Hubexzenters. Beide, Führung und Schieber, sind bei diesem Instrument (im Gegensatz zu den größeren Modellen) zylindrisch gehalten. Der sehr leicht gehende massive Zylinder hat natürlich nur eine minimale Reibung in seiner Führung. Die Einrichtung ist daher nicht wenig an dem spielenden Gang des Mikrotoms und der Erzielung einer erheblichen Schwungkraft mit dem doch relativ kleinen Antriebsrad beteiligt.

Der Schieber ist durch einen Zapfen mit dem außerordentlich massiven Hubexzenter verbunden, der auf der gleichfalls sehr starken (8 mm) Achse des Antriebsrades sitzt.

Ganz neu ist die von der Firma dem Instrumente gegebene Einrichtung für die automatische Einstellung der Schnittdicke. Auf dem Vertikalprisma ist oben ein um seine vertikale Achse drehbarer voluminöser Schraubenkopf angebracht, in den ein Schraubengang von 12 mm Höhe eingeschnitten ist. Dieser Gang, der beiläufig 2 mm tief ist, führt einen Stift, der aus einem seitwärts von dem

Schraubenkopf in einer besonderen doppelten, vertikalen Führung (die am Prisma angebracht ist) auf und nieder gehenden horizontalen Balken hervorragt. Dieser Balken trägt an seinem hinteren Ende die Sperrklinke, die von einer äußerlich nicht sichtbaren Feder seitwärts gegen die gezähnte Scheibe der Mikrometerschraube gedrängt wird. Durch ein kleines Hebelchen kann die Klinke jedoch zurückgezogen und arretiert werden, so daß man dann bequem freihändig grobe, wie feine Bewegungen mit der Mikrometerschraube ausführen kann.

Je nachdem nun vermittelst des erwähnten Schraubenkopfes die Sperrklinke eine höhere oder tiefere Stellung am Prisma erhalten hat, wird die Zahnscheibe von ihr, bei Beginn der Abwärtsbewegung von Objekt- (und Vertikal-) Schlitten, um eine größere oder kleinere Anzahl Zähne gedreht, bis die Klinke, — später oder früher, — gegen die Kante einer exzenterartig angebrachten Platte oder Spange (die am hinteren Ende des Vertikalschlittens angeschraubt ist) stößt und an ihr entlang fahrend, von dem Zahn, den sie gefaßt hatte, abgleitet. Man sieht ohne weiteres ein, daß der ganze Mechanismus höchst einfach und sehr stabil und widerstandsfähig gebaut ist.

Zu erwähnen ist noch ein kleines Schieberchen, das sich etwa in halber Höhe des Vertikalprisma befindet und eine Arretierung des Vertikalschlittens ermöglicht, was sehr bequem ist, wenn man den Block grob einstellen, beschneiden, oder Kittplatte, Gefrierkammer usw. einsetzen will, während das Messer im Halter eingespannt ist.

Die eingestellte Schnittdicke wird mittels eines Zeigers (bei den neuen Modellen etwas modifiziert) auf einer geteilten Scheibe abgelesen, die dem Schraubenkopf, der den Klinkenbalken bewegt, aufgesetzt ist. Die Peripherie dieser Scheibe ist sechsmal geteilt. Die Zahlen 1 bis 6 bedeuten, daß der Objektschlitten jeweils um 1×5, 2×5, 3×5 usw. bis 6×5 μ vorwärts bewegt wird.

Die zu dem Instrument passende Gefrierkammer ist nach demselben Prinzip gebaut, wie die, welche ich für die größeren Instrumente angegeben habe (vgl. meine Mitteilung „Über Gefriermethoden usw.“ in Bd. XXV, 1908, dieser Zeitschrift). Sie ist nur in allen Dimensionen kleiner gehalten, und daher nur halb so teuer wie jene (6 Mk.). Die Kammer ist nur 1 cm hoch (die größere 2 cm), die Gefrierplatte hat nur einen Durchmesser von 2·7 cm (die der größeren 4 cm) und die Einspritzöffnungen sind aus Gründen der Solidität des Ringes nicht in dem schmalen Hartgummiring, der die Gefrierplatte isoliert (hier 9 mm breit gegen 14 mm bei

der größeren Kammer), selbst, sondern in der Bodenplatte angebracht.

Eine der fünf Einspritzöffnungen bleibt auch nach dem Einsetzen der Gefrierkammer in die Halterklemme des Objektschlittens für den Strahl des Chloräthylsprays zugänglich, so daß also auch während des Schneidens noch nachgekühlt werden kann. Im allgemeinen ist das aber nicht nötig. Bei einer Zimmertemperatur von 20° C verfuhr ich so, daß ich die Gefrierkammer (Gefrierplatte nach unten) in der Hand hielt und mit einer Dosis Chloräthyl beschickte, das ich mit dem Spray durch die Öffnungen in das Kammerinnere leitete. Es ist leicht einzusehen, daß hiervon nicht ein Tropfen verloren gehen kann. Das innen, dicht unter der Gefrierplatte befindliche Gewebe saugt sich ganz mit Chloräthyl voll. Das Verdampfen und damit den Abkühlungsprozeß kann man durch Anblasen leicht beschleunigen. Sobald die Ober- (Außen-) Seite der Gefrierplatte sich mit Reif bezieht, drehe ich die Kammer herum, gebe das formolfixierte (gut ausgewaschene) Objekt darauf, das sofort ohne weiteres festfriert, und bespritze noch den Block von oben mit etwas Chloräthyl, damit er schneller durchgefriert. Dann wird die Kammer in den Halter des Mikrotoms gebracht und geschnitten. Die Kammer arbeitet sehr sparsam. Ich brauchte für einen Block Lendenmark vom Kalb, der 2·5 mm hoch war und nicht ganz 2 qcm Schnittfläche haben mochte, 1·5 bis 2 g Chloräthyl, also im ganzen etwa für $4^1/_2$ bis 6 Pfennige. Betonen möchte ich noch die vorzügliche Konsistenz des mit Chloräthyl zum Gefrieren gebrachten Blockes, die noch 5 μ-Schnitte durch das ganze Lendenmark herzustellen erlaubte. Die beiden Gefrierkammern, die zu den Zimmermann-Minot-Instrumenten jetzt geliefert werden, haben übrigens noch einen Vorteil vor den Kammern anderer Gefriermikrotome, auf den ich in Ergänzung meiner früheren Mitteilungen (l. c.) noch hinweisen möchte. Während nämlich bei den Kammern, die mehr oder weniger fest mit dem Instrument während des Gefrierprozesses verbunden sein müssen und daher eine ganz bestimmt orientierte Lage der Einspritzöffnungen aufweisen (wie das z. B. beim Jungschen Gefriermikrotom der Fall ist), der Chloräthylspray meist nicht zu Ende benutzt werden kann, weil das Fläschchen, um den Strahl von unten her gegen die Gefrierplatte lenken zu können, schief gehalten werden muß, und das Röhrchen infolgedessen nicht mehr in das Chloräthyl eintaucht, wenn dieses nur etwa 1 cm hoch noch in der Flasche steht, — können die Kammern für die Minot-Mikrotome stets so gehalten werden, wie

es zum Ein- und Aufspritzen des letzten Chloräthylrestes am bequemsten ist. Dieser Vorteil macht sich bei längerem Arbeiten mit der Gefriermethode sehr angenehm bemerkbar.

Da alle in der oben zitierten Abhandlung geschilderten Vorteile des Minot-Typs für Gefrierzwecke auch von dem neuen kleinen Mikrotom geboten werden, so stehe ich nicht an, nach sorgfältiger Prüfung zu behaupten, das es das beste und bequemste Instrument ist, daß wir jetzt für die beste, bequemste und billigste Gefriermethode, — die mit Chloräthyl, — besitzen.

Zum parallelkantigen Beschneiden der Paraffinblöcke empfehle ich als einfachsten und billigsten aller zu diesen Zwecken dienenden Apparate das von mir angegebene Definierlineal, das von der Firma Zimmermann zum Preise von 1·75 Mk. hergestellt wird. Nachdem der aufgekittete Block mittels des Mikrotoms eine glatte Schnittfläche erhalten hat, wird das Definierlineal an Stelle des Messers eingesetzt und die automatische Schnitteinstellung ausgeschaltet. Vorher hat man den Objektschlitten zur Vorsicht etwas zurückgekurbelt. Nach Einsetzen des Definierlineals dreht man den Schlitten wieder soweit vor, daß er vom Antriebsrade dicht an der oberen Kante des Lineals vorbei geführt wird. Man bringt den Block nun in zwei Positionen: einmal, daß die obere Kante gerade noch über dem Lineal hervorsieht, das andere Mal, daß die untere Kante gerade noch vom Lineal verdeckt wird. Jedesmal ritzt man die Schnittfläche des Blockes mittels einer am Lineal entlang geführten Präpariernadel an. Man hat auf diese Weise zwei ganz genau parallellaufende gerade Furchen auf der Schnittfläche des Blockes eingegraben, mittels deren man den Block nun leicht genau parallelkantig beschneiden kann, so daß die Schnittbänder vollkommen gerade ausfallen. Kleinere Blöcke wird man beschneiden, ohne sie mit ihrer Kittplatte dazu aus dem Halter zu entfernen. Größere und sehr große stellt man am besten aufrecht vor sich hin. Man versieht zu dem Zwecke einen Holzklotz oder wohl auch die Platte des Arbeitstisches mit einer Bohrung, die den Zapfen der Kittplatte gerade aufnimmt.

Das Definierlineal ist mit einer genauen Millimeterteilung versehen, um damit auch allerhand beim Mikrotomieren vorkommende Messungen (Messung der Schrumpfung des Objektes beim Entwässern und Einbetten, genaues Abmessen der Schnittgröße, um Deckgläser oder Objektträger möglichst vollständig ausnützen zu können u. a.) ausführen zu können. Die Teilung gestattet natürlich auch die An-

bringung von Richtlinien zum Zwecke plastischer Rekonstruktionen aus den hergestellten Schnittserien. Ich verfahre folgendermaßen und finde, daß meine Methode praktisch an Zuverlässigkeit der vortrefflichen, aber ein kostspieliges Instrumentarium erheischenden Born-Peterschen Methode nicht nachsteht.

Ich kitte den Block umgekehrt, Grundfläche nach oben, auf, als wie er später geschnitten werden soll und beschneide ihn in der eben angegebenen Weise parallelkantig und so, daß die Schnittflächen senkrecht zur Kittplatte stehen. Alsdann nehme ich ihn durch Erwärmen des Zapfens der Kittplatte, oder auch direkt mit einem Messer wieder ab und kitte ihn mit der einen der eben geschnittenen Seitenflächen wieder auf. Jetzt ist die andere, gleichsam als Schnittfläche dem Definierlineal zugewandt. Sie stellt die Definierfläche dar und wird vom Mikrotom, wenn ich genau aufgekittet habe, in einer Ebene auf- und abbewegt, die parallel zu einer durch die Messerschneide laufenden und parallel zur Vertikalbewegung des Blockes gerichteten Ebene orientiert ist. Einen Fehler könnte man durch Einspannen des Messers leicht beseitigen, indem man mit diesem so viel abhobelt, daß alle Punkte der dem Messer zugewandten Blockfläche, die die Definierlinien aufnehmen soll, wirklich in gleicher Entfernung am Messer vorbeigeführt werden. Dann wird die automatische Schnitteinstellung natürlich vor der Anbringung der Definierlinien wieder ausgeschaltet und das Messer wieder mit dem Definierlineal vertauscht.

Die Definierfläche wird mittels der Kurbel des Mikrometerschraubenkopfes so weit an das Lineal heranbewegt, daß sie haarscharf an dessen Kante vorbeigeführt wird. Jetzt setze ich eine kantig zugespitzte Präpariernadel fest auf einen geeigneten Punkt der Millimeterteilung auf und lasse sie etwas über die Kante hervorsehen. Dann führe ich den Block durch Drehen des Antriebrades an der Kante vorbei. Dabei ritze ich eine Furche von bestimmter Tiefe ein. Hierauf setze ich die Nadel beim nächsten Teilstrich des Lineales auf und verfahre ebenso u. s. f. Liegt mir daran, daß alle Definierfurchen gleiche Tiefe haben, so kann ich einen Kork an der Nadel befestigen, der sie jedesmal gleichweit über die Kante des Definierlineales hinausragen läßt. Anderseits wird es nicht immer erforderlich sein, daß den Furchen annähernd gleiche Abstände, wie oben beschrieben, gegeben werden. Aber oft ist es sehr bequem, um bei schwachen Vergrößerungen ungefähre Anhaltepunkte für schätzungsweise Messungen zu haben.

Natürlich laufen die Definierfurchen absolut genau parallel. Daß sie auch mit den sogenannten Definierrechen (die ich aber überflüssig finde) angebracht werden können, bedarf kaum besonderer Erwähnung. Anstatt sie durch besondere Vorrichtungen am Messer anzubringen, setzt man sie hier einfach auf die Kante des Definierlineals auf.

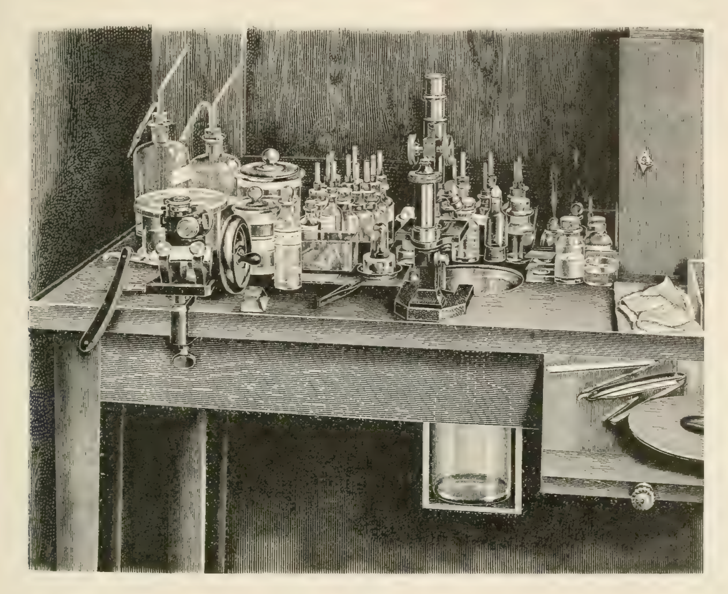
Sind die Definierfurchen angebracht, so wird der Block wieder abgenommen und mit der gleich zu Beginn der ganzen Manipulation eben geschnittenen Grundfläche definitiv aufgekittet. Durch Drehen der Kittplatte um ihre Zapfenachse wird die Definierebene so gestellt, daß ihre Kante (mit der Schnittebene) senkrecht zur Kante des Definierlineals läuft. Alsdann werden mit Hilfe des Lineals die beiden anderen Kanten beschnitten. Man nimmt nun die Kittplatte mit dem Block aus dem Halter und gibt der Definierfläche in bekannter Weise Anstrich und Paraffindecke. Ich halte es für überflüssig, sämtliche vier Seitenflächen zu überziehen, wie empfohlen worden ist.

Notwendig ist es natürlich, wenn, wie oben angedeutet wurde, die Definierfläche durch Abhobeln nachgerichtet werden mußte, daß man sich vor dem definitiven Aufkitten überzeugt, daß Grundfläche und Definierfläche im rechten Winkel sich schneiden. Wenn man, wie ich es geschildert habe, sich ohne Glas-Einbettungswinkel behilft, so gehört einige Übung dazu, den Block rechtwinklig zur Schnittfläche (oder in diesem Falle zur späteren Grundfläche) zu beschneiden. Bei gewöhnlichen Schnittserien ist das ja unnötig. Diese verlangen nur, daß die obere und untere Schnittkante parallel zur Messerschneide verläuft. Wie die Ebenen, denen beide angehören, sonst zur Schnittebene stehen, ist gleichgültig.

Um die erwähnte Schwierigkeit kommt aber auch der Anfänger ohne große Ausgaben sofort herum, wenn er mit Glaswinkeln ein bettet. Solche liefert Zimmermann sehr präzise gearbeitet für 4·25 Mk. Das Instrumentarium kostet dann immerhin erst den zehnten Teil des Born-Peterschen. Das umständliche Beschneiden fällt weg, da die Grundfläche und die Definierfläche gleich gegeben sind.

Zum Schluß beschreibe ich noch kurz einen einfachen Mikroskopiertisch, den die Firma Zimmermann, Leipzig, jetzt auf meine Anregung hin baut. Ich hoffe, daß dieser Tisch sich besonders Ärzten und allen, die sich mit mehr oder weniger bescheidenen Mitteln für mikroskopische Arbeiten einrichten wollen, brauchbarer

erweisen wird, als die Mikroskopiertischformen, die man von den größeren Firmen, für einen Arbeitsplatz am Fenster passend, angeboten findet. Diese gleichen zum Teil allem anderen mehr, als einem Mikroskopiertisch, haben z. B. aus mir unerfindlichen Gründen in etwas unter Kniehöhe eine zweite Platte oder einen Querboden, der keinen anderen Zweck erfüllt, als dem Beobachter eine möglichst



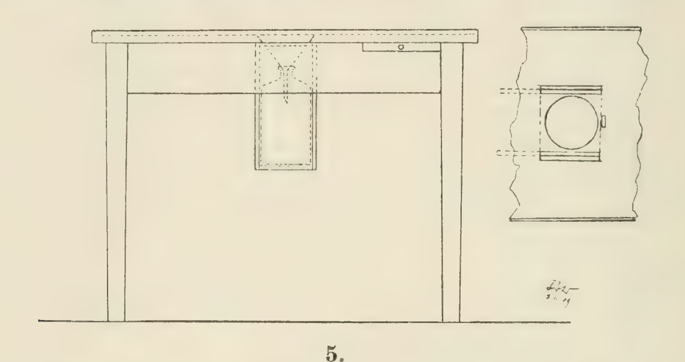
4.

Der neue Mikroskopiertisch mit den nötigen Utensilien. Rechts neben dem Mikroskop ist die Öffnung zu sehen, unter der der Kasten mit der Spülflasche sich befindet. Das kleine Mikrotom ist wie in Figur 3 mit Gefrierkammer montiert. Der Aufnahme wegen war der Tisch vom Fenster abgerückt worden. Auf dem ausgezogenen Schieber (rechts) liegt der zum Verschluß der Spülvorrichtung dienende Deckel. Die Aufnahme gibt die Verhältnisse ziemlich genau in $^1/_{10}$ nat. Größe wieder.

unbequeme Haltung seiner Beine aufzuzwingen oder sonst einen dauernden Konfliktzustand mit dem Tische aufrecht zu erhalten. Oder sie scheinen für einen Chemiker bestimmt zu sein, nicht aber für Arbeiten, bei denen Licht und wieder Licht vonnöten ist. Denn vor dem Arbeitsplatz am Tische erhebt sich ein stattliches Regal für Reagentien. Das Tageslicht zum Mikroskopieren muß also von der Seite genommen oder immer künstliches Licht verwendet werden. Eine

dritte Form erscheint mir deshalb unpraktisch, weil der Beobachter nur vor der einen Hälfte des Tisches sitzen kann, nicht vor der anderen (die nach der Abbildung in dem betreffenden Kataloge den Platz zum Mikrotomieren bieten soll). Denn hier ruht die Platte auf einem Schränkchen, das mehrere Schübe und Kästen enthält, aber natürlich beim Sitzen vor dem Platze sehr im Wege ist.

Für den gedachten Zweck kommt es nun gar nicht darauf an, Glasdosen-, Instrumenten- und sonstige Utensilienvorräte, womöglich auch noch Präparatensammlungen in dem Tische unterbringen zu



5.

Der neue Mikroskopiertisch in $^1/_{20}$ nat. Größe (Platte 100 × 50 cm). Die Einrichtung für die Spülflasche ist irrtümlich zu weit nach links gezeichnet. Die Nebenzeichnung deutet die Einrichtung zum Einhängen des Kastens an (von unten gesehen). Der Kasten kann in der Richtung der punktierten Linien herausgezogen und dann, zwecks Entleerung der Spülflasche, abgenommen werden.

können. Für Glasdosen sind solche Kästen zum Beispiel ein unter allen Umständen ziemlich ungeeigneter Aufbewahrungsort, denn wenn man den Kasten aufzieht, fällt alles durcheinander. Aber alle diese Dinge werden überhaupt viel besser und zweckmäßiger in einem Regal oder in einem Schranke für sich aufbewahrt. Der Mikroskopiertisch soll die Lichtverhältnisse möglichst auszunützen erlauben und ein bequemes Mikroskopieren (dahin gehört auch das Färben und Fertigmachen der Präparate, das Zeichnen und ähnliches), sowie auch das Mikrotomieren mit einem nicht gerade zu großen Instrument gestatten. Selbstverständlich muß er auch Platz für feinere Präparationsarbeiten bieten. Die Präparierinstrumente werden am besten, soweit sie ständig zur Hand sein müssen, in einem gläsernen Kasten mit Deckel auf dem Tisch verwahrt. Deckeldosen für Objektträger

und Deckgläser, Flaschen für destilliertes Wasser, Alkohol, Xylol, Balsam und sonstige wichtigste Reagentien finden natürlich auch auf dem Mikroskopiertisch bequem Platz.

Dagegen gehören alle anderen Gerätschaften und die Mehrzahl der Reagentienflaschen auf einen besonderen, einfachen größeren Tisch, auf dem der Paraffinofen und ein Wasserbad oder ein einfacher Dreifuß zum Kochen steht und auf dem auch alle gröberen Präparationen vorgenommen werden. Diese Dreiteilung der Einrichtung: Mikroskopiertisch, Präpariertisch und Aufbewahrungsregal oder -schrank läßt sich bei den beschränktesten Raumverhältnissen und mit den bescheidensten Mitteln durchführen und gewährleistet ein sauberes und bequemes Arbeiten.

Der neue Mikroskopiertisch wird für 25 Mk. von Zimmermann in bester Ausführung geliefert und entspricht nach meinen Erfahrungen den erwähnten Anforderungen auf das vollkommenste (vgl. Fig. 5).

Die Tischplatte ist 100 cm lang und 50 cm breit, schwarz gebeizt und hat einen ringsum laufenden, 1 cm überstehenden Bord. Etwas rechts von der Mitte der Tischlänge (in der Figur aus Versehen in die Mitte des Tisches gezeichnet) verschließt ein Deckel einen in der Mitte der Tischtiefe angebrachten runden Ausschnitt von 15 cm Durchmesser, unter dem in zwei Falzen, so daß er nach links herausgezogen und abgenommen werden kann (vgl. die Nebenzeichnung auf Figur 5, die die Einrichtung an der Unterseite der Tischplatte andeutet), ein 32 cm hoher Kasten von 16×16 cm Bodenfläche hängt. In diesem Kasten steht eine $2^1/_2$ Literflasche mit einem bis dicht unter den Deckel reichenden Trichter. Rechts davon kann man eventuell noch einen in der Figur angedeuteten Schieber anbringen lassen, der bisweilen zur Vergrößerung der Tischfläche bequem ist.

Ich habe es sehr bequem gefunden, daß das Gefäß zur Aufnahme von Spülwasser nicht auf dem Tische herum steht, sondern in der geschilderten Weise unter das Niveau der Tischplatte versenkt ist. Besonders wenn man feinere Färbungen auf einzelnen Objektträgern oder Deckgläsern vornimmt (wie sie für den Arzt fast ausschließlich in Betracht kommen), bei denen die mikroskopische Kontrolle der Wirkung differenzierender Medien eine Rolle spielt, aber auch sonst, bei gewöhnlichen Präparationen, ist es außerordentlich angenehm, daß man quasi den Ausguß dicht vor und unter dem Mikroskope hat.

Daß der Tisch sehr leicht transportabel ist, wird sicher ebenfalls in den Kreisen, für die er bestimmt ist, als ein wesentlicher Vorteil begrüßt werden. Man kann eben nicht nur die natürlichen, sondern auch die künstlichen Lichtverhältnisse auf das vollkommenste ausnutzen.

[Eingegangen am 8. Februar 1909.]

Eine neue Methode der Härtemessung.

Von

Dr. Viktor Pöschl
in Graz.

Hierzu eine Textabbildung.

Unter den zahlreichen bisher in Anwendung gekommenen Methoden[1] der Härtemessung an Mineralien oder Metallen gibt es wenige, welche einen Anspruch auf große Genauigkeit und Exaktheit machen können; die besten unter ihnen lassen sich nur mit Hilfe schwierig herzustellender Apparate (wie z. B. des Mikrosklerometers von Jaggar) realisieren, oder sind nur für einen Teil aller festen Körper anwendbar, wie die von Auerbach[2] vorgeschlagenen absoluten Härtemessungen.

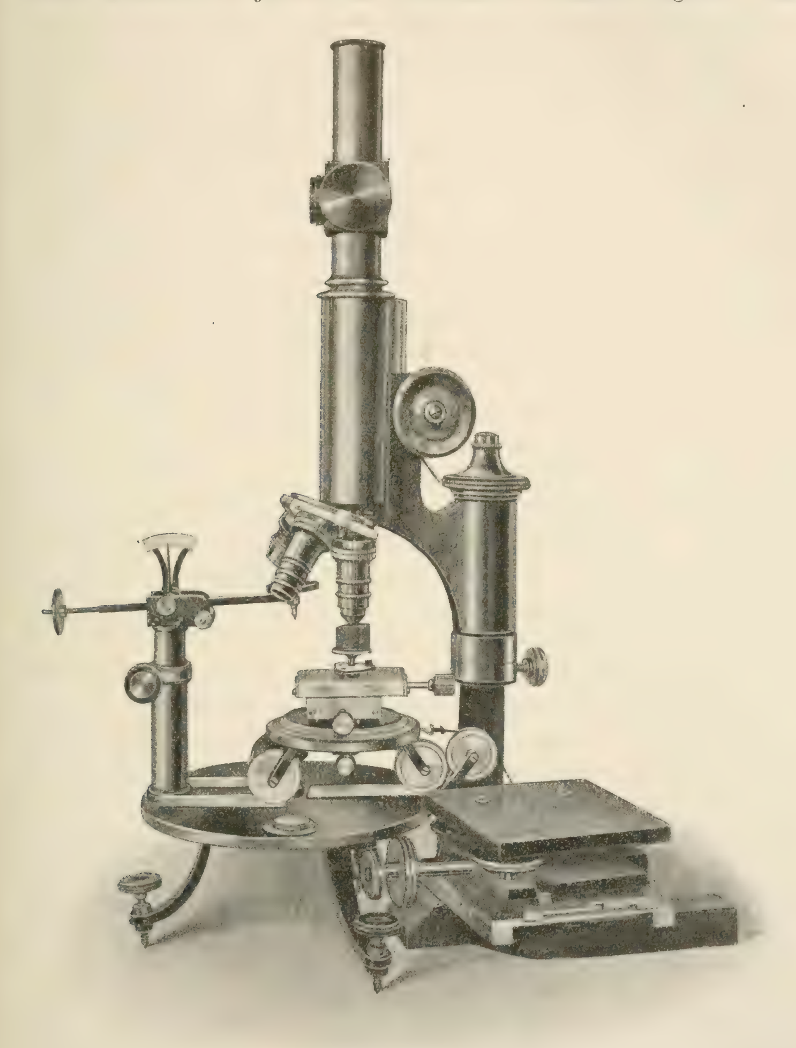
Die gewöhnlichen Methoden sind von so vielen Umständen beeinflußt, daß ein verläßliches Resultat nur ausnahmsweise zu erhalten ist. Die Hauptfehler vieler bisher üblich gewesener Messungen scheinen mir darin ihren Grund zu haben, daß, wenn auch das angewandte Instrument noch so genau konstruiert war, zu viel dem Experimentator überlassen blieb, von dessen Ermessen die Feststellung des Eintrittes des richtigen Momentes zur Ablesung abhing. Die

---

[1]) Vgl. die ausführliche Zusammenstellung der Literatur bei T. A. Jaggar, Ein Mikrosklerometer zur Härtebestimmung (Zeitschr. f. Krist. Bd. XXIX, 1898, p. 262).

[2]) Auerbach, F., Gött. Nachr. 1890, p. 518.

ältesten Meßmethoden beruhen auf der Deformation durch Ritzen. Diese Methode ist jedoch aus mehrfachen Gründen ungenau: das



Ritzen hängt nämlich von der Beschaffenheit der Fläche, noch mehr von der Substanz und dem Drucke des ritzenden Körpers ab; der Zeitpunkt des Erkennens des Auftretens eines Ritzes kann ferner von dem einen Beobachter früher, von dem anderen später als der

maßgebende angesehen werden. Die Bohrmethode entbehrt (abgesehen von den anderen Umständen) auch deshalb der Genauigkeit, da es unmöglich ist, die Tiefe der Bohrlöcher absolut genau zu messen — einer ähnlichen subjektiven Beurteilung unterliegen auch andere Arten der Härtebestimmung.

Ich habe mich bemüht, die Härtemessung von subjektiven Momenten möglichst frei zu machen und ging deshalb von folgender Überlegung aus. Wirkt die Spitze eines Körpers auf die Fläche eines anderen, so wird durch die Bewegung der belasteten Spitze eine Arbeit geleistet, welche für dieselbe Belastung für irgend zwei Körper unter sonst gleichen Verhältnissen konstant bleiben muß. Die Arbeit äußert sich in Deformationen beider Körper. Nimmt man nun den einen, etwa die ritzende Spitze, praktisch als unveränderlich an, so muß die Deformation nur auf dem zweiten zur Geltung kommen. Wenn es nun gelingt, die Deformation auf der geritzten Fläche genau zu bestimmen, so ist damit die Grundlage für die Aufstellung eines Maßes der Härte gefunden. Zur Prüfung dieses Problems war notwendig: ein möglichst genaues Sklerometer, mittels dessen die Deformation erzeugt wird und eine Vorrichtung, diese zu bestimmen, am nächstliegenden ein Mikroskop. Diese Vereinigung von Mikroskop und Sklerometer ist in vorstehender Figur dargestellt und wird unten ausführlicher beschrieben werden.

Diese Kombination hat, wie ich glaube, gegenüber den bisher üblichen Methoden hauptsächlich den Vorteil, daß man in der Lage ist, die erzeugten Ritze nicht bloß qualitativ, sondern auch quantitativ zu untersuchen und deren absolute Größe anzugeben, was für die Berechnung der durch Deformation geleisteten Arbeit, somit des Härtemaßes unerläßlich ist.

Wie schon angedeutet, habe ich mich zunächst für die Ritzmethode entschieden. Es gilt nämlich ein möglichst einfaches Instrument anzuwenden, um die Messungen bequem durchführen zu können. Ich benutze ein

Sklerometer,

das im Prinzip dem Seebeckschen Apparate[1] und dem von Grailich und Pekárek[2] modifizierten ähnlich ist.

---

[1]) Dr. A. Seebeck, „Über Härteprüfung an Kristallen“; eine physik. Abh. z. Prüfungsprogramm des Realgymnasiums, Berlin 1833.

[2]) Grailich u. Pekárek, Das Sklerometer, ein Apparat zur genauen Messung der Härte der Kristalle (Sitzungsber. d. math.-naturw. Klasse d. kaiserl. Akad. d. Wiss. Wien, Bd. XIII, 1854, p. 410).

Auf drei mit Stellschrauben versehenen Füßen ruht eine Zinkplatte, welche mit Hilfe einer angeschraubten Libelle (in der Figur am vorderen Teile der Platte sichtbar) leicht horizontal gestellt werden kann, wodurch auch gleichzeitig die Achse des Hebels in die horizontale Lage kommt. Dieser ruht auf einer an der Platte festgemachten Säule, kann beliebig gehoben und mittels der an der Säule sichtbaren Schraube fixiert werden. Der Hebel trägt an einem Ende die ritzende Spitze, die nach Bedarf durch Abschrauben entfernt und durch eine andere ersetzt werden kann. Jede Spitze trägt gleichzeitig die Schale zur Aufnahme der Gewichte. Das Horizontalstellen des Hebels geschieht durch eine (in der Figur links sichtbare) Schraube. Der Balken wird in eine solche Lage gebracht, daß die Spitze bei der Horizontalstellung des Hebels gerade die zu untersuchende Fläche des Körpers berührt. Dieser ist auf einem Wagen derart befestigt, daß die zu prüfende Fläche horizontal liegt.

Um dies zu erreichen, macht man den Körper mit Klebwachs fest, legt eine Dosenlibelle auf die Fläche und dreht das kleine Tischchen, das den Körper trägt, in einem Kugelgelenke, bis der Körper die gewünschte Lage hat (in der Figur ist ein Topaskristall zu sehen, der zur Bestimmung der Härte auf dem basischen Pinakoid eingestellt ist). Für unregelmäßige Körper verwende ich mit Vorteil eine Schale als Träger, die mittels eines angesetzten Gewindes bequem in der Kugel des Gelenkes eingeschraubt werden kann. Zur Untersuchung der Härte an den schmalen Ebenen von Plättchen schraube ich in die Kugel einen kleinen Schraubstock ein, der in einfacher Weise die Plättchen festklemmt.

Das Kugelgelenk ist samt den daran befestigten Teilen auf dem Wagen mittels einer Quer- und Längsführung beweglich; mittels zweier Schrauben kann jede beliebige Stelle eines Körpers in das Zentrum einer Kreisscheibe gebracht werden, welche konzentrisch zur Grundplatte des Wagens drehbar ist. Mit Hilfe einer weiteren Schraube kann man die Platte, die die Gradeinteilung trägt, in jeder Lage feststellen. Der Wagen ruht auf drei Rädern, die auf Stahlschienen laufen. Er besteht hauptsächlich (mit Ausnahme der Schrauben) aus Magnalium, ist also sehr leicht gebaut und beweglich. Die Säule, Füße usw. des Instruments sind aus Messing verfertigt. Der Wagen wird mit Hilfe einer Schnur, die über eine Rolle gelegt ist, mit der Hand oder durch Gewichte angezogen, die auf eine am Schnurende befindliche Schale gelegt werden. Mit dem Instrument allein kann die Härte auf verschiedene Weise gefunden und definiert werden, und zwar:

1) Konstante (kleine) Belastung der Spitze. Härte wird betrachtet als proportional der Anzahl der Abnutzungsbewegungen, bis ein (sichtbarer) Ritz auftritt.
2) Konstante (große) Belastung der Spitze. Härte umgekehrt proportional dem Gewicht, welches das Mineral zieht.
3) Härte proportional dem Gewicht, welches auf die Spitze wirkt.

Ich will der dritten Methode aus leicht begreiflichen Gründen bei weitem den Vorzug geben; denn hierbei läßt sich

das Mikroskop

am besten zur Untersuchung des Ritzes und somit zur Erhöhung der Genauigkeit der ganzen Messung heranziehen, und zwar nach folgenden Voraussetzungen:

Makroskopisch kann man nur feststellen, wann der Ritz sichtbar wird und welche Belastung der Spitze hierzu nötig ist. Daß dieses Sichtbarwerden in höchstem Grade ein subjektiver Begriff ist, liegt auf der Hand — und auch die Untersuchung auf mikroskopischem Wege ändert daran nichts. Denn auch hierbei tritt bei fortwährender Verringerung des aufgelegten Gewichtes der Fall ein, wo man schwer das Vorhandensein eines Ritzes als sicher aussprechen kann. Es ist klar, daß das kleinste Gewicht, das auf eine harte (z. B. Diamant-) Spitze wirkt, auf einem Kristall (z. B. Steinsalz) eine wenn auch kaum sichtbare Deformation erzielt. Wenn es bei den gewöhnlichen Vergrößerungen auch nicht gelingt, diese nachzuweisen, so muß man doch annehmen, daß ein ideales Instrument selbst die kleinsten Ritze sichtbar machen kann. — Es gibt nun den Ausweg, daß wir ein (beliebiges, aber genau anzugebendes) Gewicht auf die Spitze wirken lassen und die Breite und Tiefe des Ritzes genau messen. Ich betrachte nun die Härte als umgekehrt proportional der Größe der Furche und benutze diese als Grundlage eines Maßes für die Härte. Die Messung ist frei von Subjektivität, denn auf mikroskopischem Wege kann man die Dimension der Furche bis auf einige μ genau messen. Das Instrument, welches ich hierzu benutze, ist ein Metallmikroskop aus der Firma C. Reichert, Wien[1], nach Prof. Dr. A. Rejtö in Budapest. Die am Fuße angebrachte Schraube wird zurückgedreht, die Säule um die Achse des Mikroskops um 180°, der Tisch außerdem um 90° gedreht, die Säule mit einer Schraube am Fuße wieder befestigt. In diesem Zustand wird

[1]) Vgl. Zentral-Zeitg. f. Optik u. Mechanik, 1897, No. 17.

nun das Mikroskop so seitlich dem Sklerometer genähert, daß der Wagen, nachdem er unter der Spitze weggezogen (und der Hebel mittels einer Schraube arretiert) wurde, die zu prüfende Fläche in das Gesichtsfeld des Mikroskops gebracht hat. Um dies zu erreichen, arbeitet man zunächst mit der schwachen Vergrößerung: mit Hilfe der Spitze wird ein Ritz gemacht, der Wagen seitwärts geschoben und das Mikroskop so gerückt, daß der Ritz das Gesichtsfeld halbiert. Hierauf wird der Fuß des Mikroskops zum Zwecke der Vermeidung einer Verschiebung beschwert (in der Figur nicht dargestellt). Für die schwache Vergrößerung (Reichert, Objektiv 2) reicht die Beleuchtung im auffallenden Lichte hin. — Zum Zwecke der Ausführung von Messungen benutze ich eine starke Vergrößerung (Reichert, Objektiv 5) und zur Aufhellung des Gesichtsfeldes einen Beleuchtungsapparat, der an Stelle des Okulars in den Auszug des Tubus eingesetzt wird.

Als Lichtquelle dient ein Auerbrenner, der in einer Entfernung von etwa $^1/_2$ m vom Mikroskop aufgestellt, von einem Tonzylinder umgeben ist, das Licht durch einen zylindrischen Ansatz austreten und in die Linse des Beleuchtungsapparates hineingelangen läßt. (In der Figur ist das Gehäuse des Beleuchtungsapparates als Kubus unterhalb des Okulars zu sehen; das Licht hat man sich als von links kommend zu denken.) Das Prinzip des Beleuchtungsapparates sei kurz erwähnt. Durch die Linse (deren Fassung in der Figur links am schwarzen Gehäuse zu erkennen ist) werden die Lichtstrahlen konvergent gemacht und durch die um 45° gegen die Achse des Mikroskops geneigte Glasplatte in die Richtung der Tubusachse gelenkt. Die Lichtstrahlen beleuchten so das Objekt und werden von der Oberfläche des Körpers (die ja, wie oben bemerkt, horizontal gestellt wurde) wieder in der Richtung der Mikroskopachse reflektiert und gelangen so ins Auge. Für alle Objekte ist die Beleuchtung bei der Anwendung des Objektivs 5 in jeder Weise vorzüglich, für Objektiv 8 noch ausreichend.

Nach Einstellung mit starker Vergrößerung wird der Ritz als Band sichtbar; seine Breite kann mit Hilfe eines Okularmikrometers (Okular 4), die Tiefe mittels der Mikrometerschraube auf 2 bis 3 μ genau gemessen werden. Handelt es sich um mehrere Härtemessungen nach einer Richtung, so braucht nur durch Drehen der Schraube am Support der Körper um ein Stückchen parallel verschoben werden. Wird dann durch Zurückschieben des Wagens, Niedersenken der Spitze und Ziehen des Wagens mit der Hand ein neuer Ritz erzeugt,

so erscheint dieser an derselben Stelle wie der frühere im Gesichtsfelde des Mikroskops.

Um für die Vergleichung verschiedener Kristalle ein brauchbares Resultat zu erzielen, muß die Diamantspitze vollständig unverändert bleiben, wovon man sich durch genaue Untersuchung (mittels des Metallmikroskops) überzeugen kann. Ich habe bis jetzt hauptsächlich weichere Kristalle untersucht und selbst nach mehrstündigen Versuchen nicht die geringste Änderung der Diamantspitze wahrgenommen, da die Ritze so schwach sein können, daß man sie mit freiem Auge kaum erkennen würde. Für die Bestimmung der Härte ist ferner vorteilhaft, daß die Größe des Ritzes von der Geschwindigkeit des Wagens ohne merkbaren Einfluß ist, und daß infolge des geringen Druckes der Spitze der störende Einfluß der Spaltbarkeit nicht zur Geltung kommt. Ich glaube daher, daß nur die Härte des Körpers die Ursache der Größe des Ritzes ist, die, schier unbeeinflußt von anderen Momenten, nur als Folge des molekularen Zusammenhanges der Teilchen erscheint. Anderseits können wir aus der Größe des Ritzes einen sicheren Schluß auf die Härte des Körpers ziehen. Auf dieser Grundlage wird es, wie ich hoffe, möglich sein, ein geeignetes Härtemaß aufzustellen, wenn man ein reiches Untersuchungsmaterial zur Verfügung haben wird. Darüber und über noch auszuarbeitende Details gedenke ich in Bälde ausführlich zu berichten.

Graz, K. K. Handelsakademie.

[Eingegangen am 16. Februar 1909.]

Über eine Spiegel-Reflex-Camera für mikrophotographische Aufnahmen.

Von

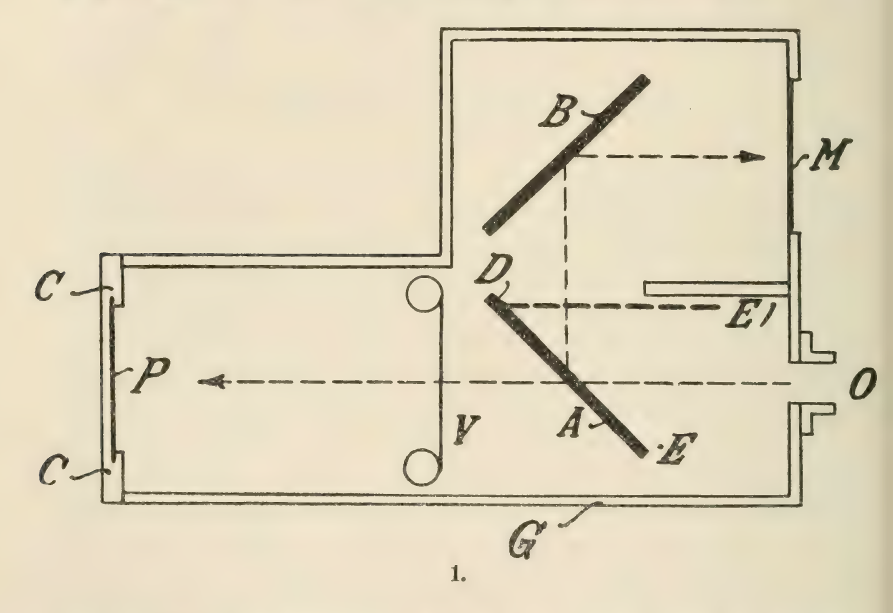
Dr. W. Scheffer
in Berlin.

Hierzu drei Textabbildungen.

Die Aufgabestellung für die Konstruktion dieser Camera war: Eine mikrophotographische Camera zu schaffen, die es ermöglicht, in bequemer Körperhaltung zugleich die Vorgänge auf der Mattscheibe zu beobachten und alle am Mikroskop und der Beleuchtungseinrichtung notwendigen Hantierungen auszuführen. Weiter sollte die Beobachtung der Vorgänge auf der Mattscheibe bei bereits geöffneter Kassette geschehen, so daß zwischen der Beobachtung des Mattscheibenbildes und der Aufnahme kein nennenswerter Zeitraum liegt.

Figur 1 zeigt schematisch die Lösung dieser Aufgabe. In einem Holzkasten sind zwei Spiegel eingebaut: A und B. Das von dem Mikroskop durch O kommende Licht wird durch 2malige Spiegelung durch die Spiegel A und B auf die Mattscheibe M geworfen. Das Okularende des Mikroskopes ist mit O durch das bekannte Trichterstück lichtdicht verbunden. In V ist ein Schlitzverschluß, der ausgelöst wird, wenn der Spiegel A aus der Stelluug DE in die Stellung DE' um die Achse D gedreht wird. Der Verschluß wird erst dann ausgelöst, wenn die Endlage DE' erreicht ist. Wenn der Verschluß V sich öffnet, geht das Licht vom Mikroskop geradlinig im Sinne des Pfeiles zu der freiliegenden, lichtempfindlichen Platte P, die in der Kassette C liegt. Der Raum vor P ist vollkommen dunkel, wenn der Schlitzverschluß V gespannt oder abgelaufen ist. Wenn man den Schlitzschluß aus der Camera herausnimmt, genügt der Spiegel A in der Stellung DE, um alles vom Mikroskop kommende Licht auf M zu werfen und die Platte P vollkommen vor Licht zu schützen. Dies ist wichtig für die Herstellung länger andauernder Zeitaufnahmen.

Figur 2 zeigt die praktische Ausführung einer derartigen Camera in Verbindung mit der großen Zeissschen mikrophotographischen Camera. Der vordere konische Teil der Camera ist ersetzt durch die hier beschriebene Neukonstruktion. Wie die Figur zeigt, läßt sich dieselbe ohne weiteres in die große mikrophotographische Camera von Zeiss einbauen. Bei *O* ist das Trichterstück zu sehen, welches die lichtdichte Verbindung mit dem Mikroskop bewirkt und bei *M* die Mattscheibe. Bei *H* sieht man den Hebel, mit dem der Spiegel *A* (Fig. 1) gehoben wird. *K* ist ein Knopf, mit dem der Spiegel *A* in

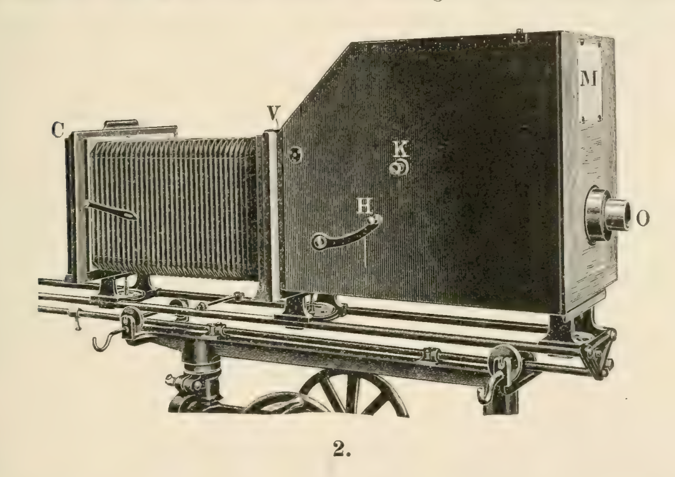


1.

der Stellung *D E'* festgehalten werden kann. Bei *V* liegt der Schlitzverschluß. Die Verbindung des hinteren Balgenteiles mit dem Holzkasten ist genau dieselbe wie die der beiden Teile der großen mikrophotographischen Camera. Die Spiegel-Reflex-Camera kann also ohne weiteres gegen den üblichen konischen Vorderteil ausgewechselt werden. Bei *C* liegt die Kassette. Natürlich muß die Anordnung so getroffen werden, daß der optische Weg von *O* bis *M* gleich lang ist demjenigen von *O* bis *C*. Bei dieser Anordnung kann man bei ungezwungener Körperhaltung die grobe und die feine Tubusbewegung, den Kreuztisch, den Abbeschen Beleuchtungsapparat, die Beleuchtungsvorrichtungen auf der optischen Bank mit der rechten Hand verstellen und zugleich die Wirkung dieser Manipulationen auf

das Mattscheibenbild beobachten. Um eine mikrophotographische Aufnahme zu machen, spannt man zuerst den Schlitzverschluß, setzt bei C die Kassette mit der lichtempfindlichen Platte ein und zieht den Schieber der Kassette auf. In dem Moment, in dem man belichten will, drückt man den Hebel H mit der linken freien Hand herunter und die Aufnahme geschieht ohne irgendwelchen Zeitverlust.

Ursprünglich wurde dieser Apparat konstruiert, um Aufnahmen von rasch beweglichen Objekten herzustellen. In der Tat gelang es, sowohl in durchfallendem Licht wie bei Dunkelfeldbeleuchtung, mit Sicherheit auch schnell bewegte Objekte scharf aufzunehmen und ihr Bild auch in die Mitte der Platte zu bringen. Es stellte sich bald



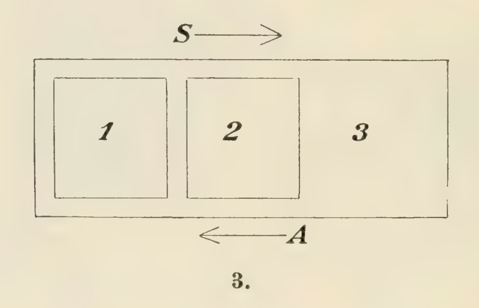
2.

heraus, daß dieser Apparat nicht nur für Momentaufnahmen, sondern für alle Aufgaben der Mikrophotographie, sowie auch für die Kinematographie mikroskopischer Objekte erhebliche Vorteile bietet.

Die Möglichkeit, die Einstellung bis zum Moment der Aufnahme zu beobachten, ist von großem Nutzen. Veränderungen der Einstellungen kommen ja leider ziemlich häufig vor und jeder Mikrophotograph hat wohl schon mit dieser Schwierigkeit zu kämpfen gehabt. Wenn man z. B. eine Diatomee mit stark schiefer Beleuchtung aufnehmen will, kann man durch Herunterlassen des Spiegels während der Exposition die Einstellung kontrollieren. Für längere Zeitaufnahmen gerade dieser Art, bei denen es auf besonders genaue Einstellung ankommt, ist diese Einrichtung recht zweckmäßig. Der Einwand, daß man bei diesem Apparat nur mit einer bestimmten Auszugslänge arbeiten kann, ist nach unseren Erfahrungen nicht

stichhaltig. In unserem Laboratorium haben wir seit über einem Jahre alle überhaupt vorkommenden Aufnahmen der mannigfachsten Art mit der festen Balgenlänge von einem Meter gemacht, wir waren noch nicht einmal in der Lage, uns einen veränderlichen Balgenauszug zu wünschen. Die konstante Auszugslänge hat den Vorteil, daß man späterhin bequem die Vergrößerung angeben kann. Das erste Modell einer solchen Mikro-Spiegel-Reflex-Camera wurde nach einer Zeichnung des Verfassers von der Firma A. Stegemann, Berlin, ausgeführt. Dasselbe ist seit über einem Jahr in unserem Laboratorium in häufiger Benutzung, und es hat während der ganzen Zeit ohne irgendwelche Störung zu unserer Zufriedenheit funktioniert.

Für die Momentaufnahme lichtempfindlicher Objekte wurde zu diesem Apparat noch eine Zusatzvorrichtung gebaut. Figur 3 zeigt



3.

dieselbe schematisch. Die Vorrichtung besteht aus einer im Sinne der Richtungen *S* und *A* beweglichen Platte. Bei *1* und *2* zeigt dieselbe quadratische Öffnungen und bei *3* ist sie undurchsichtig. Die Vorrichtung wird in den Gang der beleuchtenden Strahlen gebracht, und zwar an eine Stelle, wo der Querschnitt des beleuchtenden Büschels möglichst klein ist. Praktisch wird dies bedeuten, daß diese Vorrichtung möglichst nahe vor dem Mikroskopkondensor aufgestellt wird. Die Platte gleitet in Schienen. In der Richtung *A* wirkt ein Federzug. Für eine Aufnahme wird die Platte im Sinne des Pfeiles *S* entgegengesetzt dem Federzug zur Seite gezogen und sie schnappt in eine Rast ein, sobald die Öffnung *1* gerade den beleuchtenden Strahlenkegel durch ihre Mitte durchläßt. In *1* können Lichtfilter beliebiger Art eingesetzt werden. Man kann also in dieser Stellung (Spannung) das zum Objekt gelangende Licht beliebig schwächen. In dieser Stellung wird auf einer Spiegelglasscheibe mit Hilfe einer ganz schwachen Lupe eingestellt. Die Mattscheibe *M*

(Fig. 1) kann natürlich durch eine Spiegelglasscheibe ersetzt werden. Nach genauer Einstellung wird ebenso wie oben beschrieben der Hebel *H* heruntergedrückt. Sobald der Spiegel *A* in der Stellung *D E'* ist, wird auf elektrischem Wege die Rast der Verschlußplatte ausgelöst und die Feder zieht die Verschlußplatte in der Richtung *A*. Bei *2* hat die Verschlußplatte eine Öffnung, die die Belichtung bewirkt, und bei *3* ist sie wieder undurchsichtig. Natürlich muß die Lichtschwächung bei *1* so eingerichtet sein, daß mit der geringsten Menge des für das Objekt unschädlichsten Lichtes eingestellt wird. Für derartige Aufnahmen muß der Verschluß bei *V* herausgenommen werden. Die Ganggeschwindigkeit der Verschlußplatte läßt sich mit Hilfe einer Bremse, sowie durch Regulierung der Federspannung in den nötigen Grenzen verändern. Herr Volk erwähnt in den „Mitteilungen über die biologische Elbe-Untersuchung", Verhandlungen des naturwissenschaftlichen Vereins in Hamburg 1907, Folge XV, eine denselben Zwecken dienende Vorrichtung. Seine Veröffentlichung wurde mir erst bekannt, nachdem ich die hier beschriebenen Vorrichtungen im Laboratorium der optischen Werkstätte Carl Zeiss bereits längere Zeit mit gutem Erfolg benutzt hatte. In dem Prospekt der Firma Carl Zeiss in Jena über Heiz-Mikroskope findet sich ebenfalls eine Einrichtung nach Siedentopf zur Moment-Mikro-Photographie erhitzter Objekte beschrieben. Diese Einrichtung ist speziell für die in dem Prospekt erwähnten Zwecke konstruiert.

[Eingegangen am 8. Februar 1909.]

[Aus dem Laboratorium des Jefferson Medical College.]

Einige Modelle zur Darstellung der Mitose.

Von

Dr. H. E. Radasch, M. S., M. D.,
Associate in Histologie und Embryologie und Docent in Anatomie
in Jefferson Medical College, Philadelphia.

Hierzu eine Tafel (Tab. I).

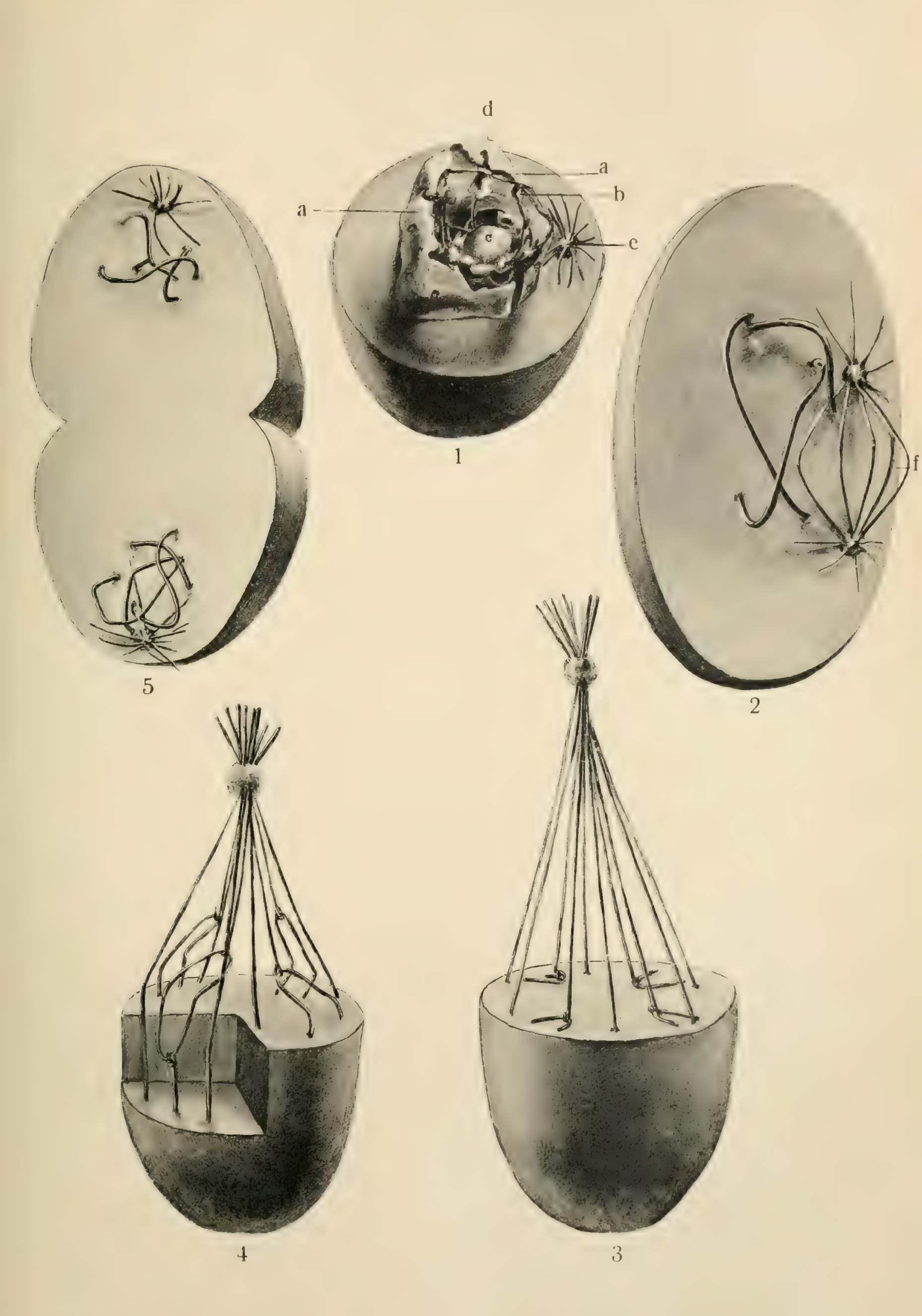
Da die verschiedenen Phasen der Mitose sich nicht leicht auf der Fläche erklären lassen, fiel es dem Verfasser ein, mehrere Modelle zu herzustellen, in welche man die verschiedenen Figuren in ihrer Projektionsebene erkennen könnte. Dazu wurde die folgende Wachsmasse benutzt und folgende Präparate gemacht:

Weißes Wachs	1 Teil
Gelbes Wachs	2 Teile
Paraffin, 52° C	1 Teil
Stärke	2 Teile
Talk	3 „

In der ersten Figur (Tab. I) erblickt man die Zelle mit ihrem ruhenden Kern. Das Kernhäutchen ist teilweis abgenommen, um das Innere des Kernes zu zeigen. Hier sieht man das Chromatingerüst (*a*); um dieses darzustellen, wurde Aluminiumdraht zum Netz gebogen und dann mit Wachs unregelmäßig bedeckt. Wo die Netzfasern einander kreuzen, wurden Anhäufungen des Wachses gelegt, um Kernknoten vorzustellen (*b*). Das Kernkörperchen wurde durch ein größeres Wachskügelchen (*c*) geschildert. Zuletzt wurde das Netz in weiche Blattgelatine eingewickelt und später mit einer heißen Nadel durchstochen, um eine durchlöcherte Kernmembran (*d*) darzustellen.

Das Centrosom (*e*) wurde aus einem Stückchen Wachs, die Polstrahlen aus einem feinen Drahtstücke erschaffen und dann vergoldet.

In der zweiten Figur sieht man das Chromatin zum losen Fadenknäuel umgebildet und aus dickem Aluminumdraht verfertigt; die



Radasch fec.

Verlag von S. Hirzel in Leipzig. Lichtdruck v. Sinsel & Co., G. m. b. H., Oetzsch-Leipzig.



anderen Bestandteile des Kernes sind verschwunden, das Centrosom hat sich geteilt, und obgleich sich die Tochterchromosomen auseinander gerückt haben, sind sie doch noch durch ein achromatisches Gerüst im Zusammenhang; da dieses Gerüst endlich spindelförmig wird, so wird es die Zentralspindel genannt.

Die dritte Figur schildert das Ende der Prophase, auch Äquatorialplatte oder Monaster genannt. Die Halbzelle ist von der Seite gezeigt. Der Chromatinknäuel hat sich zu bestimmter Anzahl einzelner U-förmiger Segmente geteilt, die sich in der Äquatorialebene der Zelle zur Sternfigur oder Monaster geordnet haben, mit ihren Scheiteln dem Zentrum der Zelle radiär angeordnet. Die Centrosomen sieht man an den Polen der Zelle einander gegenüberliegend; die Strahlen sind hier und in Figur 4 etwas dicker geschildert als sie im Modell sind. Die Zentralspindel ist vollständig gestaltet und zeigt, wie die Strahlen auf der einen Seite einander übergehen und auf der anderen Seite sich an den Chromosomen befestigen.

Wenn man die vierte Figur betrachtet, findet man hier, daß die Chromosomen sich zu Tochterchromosomen der Länge nach gespaltet haben. Sie wandern mit dem Scheitel voran in entgegengesetzter Richtung den Polen der Zelle zu, sind aber eine Zeitlang am Äquator der Zelle in Zusammenhang. In diesem Stadium bilden sie eine achromatische Spindel; um die untere Hälfte der Spindel zu zeigen, wurde ein Teil des Zelleibes entfernt, wie die Figur sehen läßt. Die Strahlen sieht man hier entweder frei oder an den Tochterchromosomen befestigt; sie hätten auch dünner geschildert werden können.

Der Anfang der Teilung des Zelleibes wird in Figur 5 durch eine äquatorialische Einschnürung vorgestellt. Die Tochterchromosomen sind in der Gegend der Centrosomen zum losen Knäuel geändert.

Mit diesen Modellen kann man leicht die zwischenliegenden Stadien zeigen und erklären; der Verfasser findet, daß die Studierenden hierdurch die verschiedenen Phasen schneller begreifen.

[Eingegangen am 10. Februar 1909.]

Referate.

1. Lehr- und Handbücher.

Tigerstedt, R., Handbuch der physiologischen Methodik (Bd. I, Abt. 2; Bd. II, Abt. 2 u. 3). Leipzig (S. Hirzel) 1908.

Dieses neue, auf breiter Basis angelegte Handbuch bezweckt die in der gesamten biologischen Literatur zerstreuten Beschreibungen der verschiedenen physiologischen Arbeitsmethoden zur bequemen Benutzung zusammenzustellen. Der große Umfang der Aufgabe und die weitgehende Spezialisierung des Arbeitsgebietes machte bei der Bearbeitung eine entsprechende Gliederung des Stoffes und Verteilung desselben an geeignete Spezialisten notwendig. Das Handbuch soll in drei Bänden zu je drei Abteilungen erscheinen. Der erste Band wird sich mit der allgemeinen Methodik, mit den Protisten, wirbellosen Tieren und mit der physiologischen Chemie und mit der Ernährung beschäftigen, der zweite Band Blut und Blutbewegung, Atmung und Verdauung, Muskelphysiologie behandeln und schließlich der dritte Band der Physiologie der Sinnesorgane und des zentralen Nervensystems (einschließlich Psychophysik und Phonetik) gewidmet sein. Bis jetzt erschien Bd. I Abt. 2; Bd. II Abt. 2 und 3. Ein ausführliches Eingehen auf die einzelnen Teile dürfte über den Rahmen dieser Zeitschrift hinausgehen, eine kurze Inhaltsangabe aber wohl manchem Leser derselben von Interesse sein.

Pütter, A., Methoden zur Erforschung des Lebens der Protisten (Bd. I, 1908, Abt. 2, p. 1—68 m. 48 Figg.).

Nach einigen allgemeinen Bemerkungen über die Brauchbarkeit der Protisten zu Objekten der physiologischen Forschung und kurzen

Angaben zur Orientierung über die Systematik derselben geht Verf. auf die Materialgewinnung näher ein und weist im Anschluß daran auf das wenige, was bis jetzt über Reinzüchtung der Protisten bekannt ist, hin. Das nächste Kapitel behandelt dann eine Reihe von Manipulationen, die beim Arbeiten mit Protisten häufig notwendig werden: Reinigen der Kulturen von Bakterien und gröberen Verunreinigungen, Auswaschen, Zählen, Bestimmen des Volumens und des spezifischen Gewichtes. Anschließend werden dann Winke zur Beobachtung der lebenden Objekte, einschließlich der Vitalfärbung gegeben. Am umfangreichsten ist das letzte Kapitel über die speziellen Methoden, die bei der Untersuchung der physikalisch-chemischen Beschaffenheit, der Ernährung und Verdauung, des Stoffwechsels, der Energieumwandlung, der Sekretion und Exkretion in Frage kommen und wie sie die Reizphysiologie erfordert. Zum Schluß bespricht Verf. noch die geringe Anzahl von Lebensvorgängen der Protisten, die sich zu Versuchen für Vorlesung und Praktikum eignen.

Bethe, A., Wirbellose Tiere (Bd. I, 1908, Abt. 2, p. 69—112 m. 7 Figg.).

Verf. macht zunächst einige summarische Angaben über das in Frage kommende Material, wobei er auf die Lebensbedingungen desselben zu sprechen kommt und allgemeine nützliche Ratschläge erteilt, um dann der Reihe nach die einzelnen Tierklassen zu behandeln und die verschiedenen Operationen, Präparate und Versuchsanordnungen, wie solche den bis jetzt ausgeführten Untersuchungen zu grunde lagen, eingehend zu besprechen, und gleichzeitig mehrfach auf noch zu lösende Aufgaben hinzudeuten. Von allgemeinerem Interesse sind Bemerkungen über die Behandlung der Instrumente bei Arbeiten mit Seetieren und über Wundverschluß und Narkose. Die Methodik der entwicklungsmechanischen Untersuchungen ist unberücksichtigt geblieben, die Technik der Versuche über Tropismen und Taxien nur an wenigen Stellen kurz erwähnt, da sie sich im allgemeinen mit der von Botanikern angewandten deckt.

Asher, L., Die Anwendung der physikalisch-chemischen Methoden in der Physiologie (Bd. I, 1908, Abt. 2, p. 113—232 m. 42 Figg.).

Die Mehrzahl der in der Physiologie angewandten Methoden der physikalischen Chemie sind solche, welche zu Untersuchungen an Flüssig-

keiten dienen. Im ersten Teil wird deshalb auch das Aufsammeln der Körperflüssigkeiten behandelt. Nach allgemeinen Angaben wird beschrieben wie experimentell eingebrachte Flüssigkeiten aus serösen Höhlen zu entfernen sind und wie Blut zu physikalisch-chemischen Untersuchungen zu sammeln ist. Der zweite Teil beschäftigt sich mit den vorbereitenden Operationen an Körperflüssigkeiten: Aufhebung der Gerinnung, Gewinnung von Plasma und Serum, Trennung der kolloïden und nichtkolloïden Bestandteile seröser Flüssigkeiten, Zentrifugieren und Aufbewahrung der gesammelten Körperflüssigkeiten. Im dritten Teil wird die Bestimmung des spezifischen Gewichtes behandelt. Nach verschiedenen allgemeinen Angaben werden die Methoden für Blut, für Kammerwasser und andere kleinste Flüssigkeitsmengen und für Organstücke besprochen. Der vierte Teil enthält die Methoden zur Bestimmung des osmotischen Druckes der osmotischen Konzentration, des Gefrierpunktes von Lösungen und Körperflüssigkeiten, der Leitfähigkeit der Elektrolyte und die osmotische Analyse der tierischen Flüssigkeiten mit Hilfe von Gefrierpunkt und Leitfähigkeit, Teil 5 die Bestimmung der Konzentration der H- und OH-Jonen und die Methoden zur Messung der Reaktionsgeschwindigkeit, Teil 6 die Anwendung der Diffusion, Osmose und Quellung, Teil 7 die Anwendung des Verteilungsprinzipes, Teil 8 die Bestimmung der Viskosität, Teil 9 die Bestimmung der Oberflächenspannung und der Kapillarität und schließlich Teil 10 die Bestimmung der Brechungskoëffizienten von Flüssigkeiten.

Schenck, J., Atembewegungen (Bd. II, 1908, Abt. 2, p. 1—53 m. 29 Figg.).

Entsprechend dem Wesen der Atembewegungen, der abwechselnden Erweiterung und Verengerung des Brustraumes nach allen Richtungen wird zunächst auf die Bestimmung der Bewegung einzelner Punkte der oberflächlich gelegenen Brustwand und des Zwerchfelles und auf die Bestimmung der Veränderung der transversalen und longitudinalen Durchschnitte des Brustraumes näher eingegangen. Dann werden die Aufgaben behandelt, die sich dadurch ergeben, daß die Erweiterung und Verengerung des Brustraumes ein Ein- und Ausströmen von Luft zur Folge hat, nämlich Bestimmung der Druckänderungen im Brustraum mit Berücksichtigung der Wirkung der Atembewegungen auf den Druck in anderen Organen, ferner Bestimmung des Volumens der ein- und ausgeatmeten Luft, sowie etwaiger Änderung der Größe des Volumens durch Änderung der

Temperatur und des Wasserdampfgehaltes der Luft bei der Ein- und Ausatmung und Bestimmung der Strömungsgeschwindigkeit der ein- und ausgeatmeten Luft. Anschließend an die Methodik der eigentlichen Atembewegung wird zum Schluß noch die Bestimmung der Residualluft und die Technik für die Untersuchungen des Verlaufs der Kontraktion der einzelnen am Atemakte beteiligten Muskeln behandelt.

Oppenheimer, C., Methodologie der Enzymforschungen (Bd. II, 1908, Abt. 2, p. 54—98).

Verf. gibt zuerst im allgemeinen die Methoden an, die bei der Darstellung und Untersuchung der Enzymreaktionen im Gebrauch sind und bespricht diejenigen Maßregeln, die unerwünschte Nebenerscheinungen zu beseitigen bestrebt sind, also vor allem die Fernhaltung bakterieller Verunreinigungen und die Ausschaltung der direkten Zelltätigkeit um dann der Reihe nach die einzelnen Fermente durchzugehen, soweit bei ihnen besondere Methoden benutzt werden. Die Methoden, die die physikalisch-chemische Untersuchung der Fermentprozesse bezwecken, also die Feststellung des Verlaufes der Reaktion, der Geschwindigkeit usw., und die prinzipiell die gleichen sind wie die mehr physiologischen, finden nur gelegentlich dann Erwähnung, wenn sie eine Bereicherung der hier speziell interessierenden Methodik bewirkt haben.

Magnus, R., Die Bewegungen des Verdauungsrohres (Bd. II, 1908, Abt. 2, p. 99—149 m. 3 Figg.).

Zunächst wird die Methodik behandelt, die zu einem Einblick in die Bewegungen, den Weg und die Geschwindigkeit fester und flüssiger Speisen beim Schlucken geführt hat, und jene, die erlaubt die Beteiligung der einzelnen beim Schluckakt mitwirkenden Muskeln festzustellen. Dann findet die Innervation und das Verhalten der Kardia Berücksichtigung. Hierauf folgt die Besprechung der Bewegungen des Magendarmkanals samt der diesbezüglichen Innervation und den hierhergehörigen Versuchen am überlebenden Organ. Zum Schluß wird dann noch kurz zusammenfassend dargestellt, mit welchen Methoden man die einzelnen Bewegungsformen des Darmkanals am besten zur Anschauung bringt.

Pawlow, J. P., Die operative Methodik des Studiums der Verdauungsdrüsen (Bd. II, 1908, Abt. 2, p. 150—188 m. 4 Figg.).

Verf. beschreibt die bei dem Studium der verschiedenen Verdauungsdrüsen notwendigen Operationen. Dies sind einerseits Vivisektionen, die gemacht werden, um unmittelbar danach Versuche und Beobachtungen anzustellen, anderseits chirurgische Operationen, durch die das Versuchstier zum Zweck der Erforschung einer Drüse anatomisch in dieser oder jener Hinsicht zugänglicher gestaltet wird, wobei die Untersuchung selbst aber erst nach völligem Verheilen der betreffenden Operationswunde beginnt.

Bürker, K., Methoden zur Thermodynamik des Muskels (Bd. II, 1908, Abt. 3, p. 1—86 m. 17 Figg. u. 8 Tfln.).

Zunächst wird in einem allgemeinen Teile getrennt über die Methoden zur Ermittlung der thermischen und dynamischen Verhältnisse, und zwar ohne Rücksicht auf den jeweiligen Zustand des Muskels berichtet. Es werden der Reihe nach die zur Messung der Temperaturdifferenz im Gebrauch befindlichen vier Methoden, die thermoelektrische, die bolometrische, die luftkalorimetrische und die thermometrische im engeren Sinne mit Luft- und Quecksilberthermometer besprochen, und dann die einzelnen Methoden einer genauen Kritik unterzogen. Weiter werden die beiden Methoden (Mischungs- und Eiskalorimetermethode), die zur Bestimmung der spezifischen Wärme bisher ausschließlich benutzt wurden, und jene zur Messung des Wärmeleitvermögens erörtert. Im folgenden Abschnitt werden die Methoden kurz entwickelt und kritisiert, welche zur Ermittlung der dynamischen Verhältnisse dienen, und welche die Messung der Längen-, Dicken-, Volumen- und Spannungsänderung zum Ziele haben. Der zweite spezielle Teil befaßt sich mit der Anwendung der kombinierten Methoden, und zwar mit Rücksicht auf den jeweiligen Zustand des Muskels. Er handelt zunächst über die Untersuchungsmethode zur Entscheidung der Frage, ob der ruhende unbelastete oder belastete Muskel, wenn er sich selbst überlassen bleibt, Wärme entwickelt und Arbeit leistet oder nicht, des weiteren über die Methode zur Untersuchung der thermodynamischen Verhältnisse bei Belastung und Entlastung des Muskels und über die Methoden zur Ermittlung der spezifischen Wärme und des Volumens. In der folgenden Behandlung der Methodik zur Ermittlung der thermodynamischen Verhältnisse des tätigen Muskels werden nach einem Hinweis auf die Art der Orientierung über den jeweiligen physiologischen Zustand der Muskelpräparate nacheinander die Methoden zur Untersuchung

des Muskels bei einfachen Zuckungen, bei Tetanus und bei Änderung des Milieu externe des Muskels besprochen. Daran schließt sich wieder ein Hinweis auf die Methoden zur Bestimmung der spezifischen Wärme und des Volumens. Die beiden letzten Kapitel des speziellen Teiles behandeln dann kurz die thermodynamischen Verhältnisse des starren Muskels und des Muskels nach Lösung der Starre. Der Darstellung der Methodik schließt sich eine Zusammenfassung der wichtigsten thermodynamischen Leitsätze an.

Frey, M. v., Allgemeine Muskelmechanik (Bd. II, 1908, Abt. 3, p. 87—119 m. 19 Figg.).

Der erste Teil befaßt sich mit den Untersuchungsmethoden der elastischen Eigenschaften des Muskels, der zweite mit den der mechanischen des tätigen Muskels. In letzterem wird nacheinander die Längsschreibung, Spannungsschreibung, Zuckungskurven, partielle Längsschreibung und Dickenschreibung behandelt und auf die Arbeitssammler und Dynamometer Rücksicht genommen. Der dritte Teil behandelt die Ausmessung und Analyse der Muskelkurven und die Bestimmung der Konstanten.

Fischer, O., Methodik der speziellen Bewegungslehre (Bd. II, 1908, Abt. 3, p. 120—316 m. 39 Figg.).

Dieser Abschnitt handelt hauptsächlich über die Anwendung der Methoden, Lehrsätze und Prinzipien der Mechanik auf die Untersuchung der sichtbaren Bewegungen, insbesondere der Gliederbewegungen des menschlichen oder allgemein tierischen Körpers, wie sie beispielsweise zum Zwecke der Lokomotion oder zur Verrichtung irgendeiner anderen Arbeit ausgeführt werden. Der erste Teil, der sich mit den Methoden der Untersuchung organischer Gelenke und Gelenksysteme befaßt, behandelt folgende Kapitel: 1) Theoretisches über den Begriff und die Methoden der Bestimmung der Bewegungsfreiheit. 2) Bestimmung der Bewegungsfreiheit in einem einzelnen Gelenk. 3) Bestimmung der Bewegungsfreiheiten in Gelenksystemen. 4) Theoretisches über den Zusammenhang zwischen der Form der Gelenkflächen und der Art der Gelenkbewegung. 5) Bestimmung der speziellen Art der Bewegung in einem einzelnen Gelenk. Der zweite Teil, über die Methoden der Bestimmung der Dimensionen, Massen und der die Massenverteilung charakterisierenden Größen der verschiedenen Abschnitte eines Organismus, sowie der für die Wirkung eines Muskels maßgebenden anatomischen Eigenschaften derselben,

bringt folgende Kapitel: 1) Theoretische Grundlagen. 2) Bestimmung der Dimensionen und Massen. 3) Bestimmung der Lage der Schwerpunkte. 4) Bestimmung der Schwerpunkte verschiedener aus mehreren Gliedern zusammengesetzter Teilsysteme und des Gesamtschwerpunktes des lebenden Menschen. 5) Bestimmung der Lage der Hauptpunkte. 6) Verwendung der Hauptpunkte zur Bestimmung des Gesamtschwerpunktes und der Schwerpunkte der Teilsysteme des lebenden Körpers. 7) Bestimmung der Trägheitsmomente. 8) Feststellung der für die Wirkung eines Muskels maßgebenden anatomischen Eigenschaften desselben. Der dritte Teil, über die Methoden der Muskelmechanik, behandelt folgende Kapitel: 1) Allgemeine Grundlagen und Methoden der Muskelstatik. 2) Methoden zur Veranschaulichung der Werte der Drehungsmomente. 3) Untersuchung spezieller Gleichgewichtsprobleme. 4) Allgemeine Grundlagen und Methoden der Muskelkinetik. 5) Bestimmung der Anfangsbewegung eines Gelenksystems. 6) Bestimmung des ganzen Verlaufes einer Gelenkbewegung unter dem Einfluß innerer und äußerer Kräfte. 7) Bestimmung der Muskelspannungen bei bekannter Bewegung eines lebenden Körpers.

Garten, S., Elektrophysiologie (Bd. II, 1908, Abt. 3, p. 317—488 m. 104 Figg. u. 3 Tfln.).

Im ersten Teil, der die Methoden der Reizung durch den elektrischen Strom behandelt, bespricht Verf. die verschiedenen bei physiologischen Arbeiten hauptsächlich zur Verwendung kommenden Stromquellen, die Elektroden, die Einrichtungen zur Veränderung der Stromstärke, behandelt ausführlich die Methoden zur Erzeugung eines elektrischen Stromes von bestimmtem zeitlichen Verlauf, geht auf die Reizung durch tierische elektrische Ströme ein und macht mit den Versuchsanordnungen zum Nachweis der polaren Erregung und der Veränderungen der Erregbarkeit bekannt. Im zweiten Teil, der die Beobachtungsmethoden der tierischen elektrischen Ströme enthält, werden zunächst die verschiedenen Galvanometer und Elektrometer beschrieben, das Nötige zum Verständnis und den Gebrauch dieser Apparate beigebracht und schließlich die Beobachtung des Demarkationsstromes, der Aktionsströme, der Polarisation und der elektrotonischen Ströme behandelt. *E. Schoebel (Neapel).*

Steinhaus, J., Grundzüge der allgemeinen pathologischen Histologie. Mit über 150 Mikrophotogrammen auf 25 Tfln. Leipzig (Akad. Verlagsgesellschaft) 1909. 10 M.

Der 44 Seiten lange Abschnitt, der den Untersuchungsmethoden pathologischer Gewebe und Flüssigkeiten gewidmet ist, soll Anfängern zur Einführung dienen. Ein kurzes Kapitel ist der Untersuchung frischer Objekte gewidmet. Dann folgen Anweisungen zur Fixierung, Härtung, Entwässerung, Entkalkung, Einbettung in Paraffin und Celloïdin, Handhabung der Mikrotome und Einschluß der Schnitte. Eine reiche Auswahl von Methoden findet sich in dem Kapitel über die Färbung. Neben den einfachen Karmin- und Hämatoxylinfärbungen sind kompliziertere Strukturdetails darstellende und differenzierende Methoden geschildert, so für Protoplasmagranulationen, für Fibrin, Fett, Hyalin, Amyloïd, Glykogen, Schleim, elastische Fasern, Pigmente, Mast- und Plasmazellen, Blut, Markscheiden, Achsenzylinder, Neuroglia, Nervenzellen und Neurofibrillen. Die wichtigsten Bakterienfärbungen sind zum Schluß in einem kleinen Kapitel beschrieben. Die Darstellung ist übersichtlich. *O. Levy (Leipzig).*

Korányi, A. v., u. Richter, P. F., Physikalische Chemie und Medizin. Ein Handbuch unter Mitwirkung von Dr. J. Bence, Prof. Dr. Boruttau, Prof. Dr. F. Bottazzi, Dr. F. Frankenhäuser, Dr. R. Höber, Prof. Dr. A. v. Korányi, Prof. Dr. A. Loewy, Prof. Dr. L. Michaelis, Dr. Oker-Blom, Prof. Dr. P. F. Richter, Dr. M. Roloff, Prof. Dr. C. Spiro und Prof. Dr. H. Strauss herausgegeben. Bd. I. Mit 27 Abbildungen. 575 pp. Leipzig (G. Thieme) 1907. 16 M.; geb. 19 M.

Daß sich die für den Biologen geschriebenen Handbücher der physikalischen Chemie mehren — ich erinnere an das bereits in zweiter Auflage vorliegende Lehrbuch Höbers, an Hamburgers Handbuch über osmotischen Druck und Formenlehre in den medizinischen Wissenschaften, — ist ein erfreuliches Zeichen für das steigende Interesse der Naturwissenschaftler und Mediziner an den Fragen der physikalischen Chemie. Das neue Handbuch von Korányi und Richter bringt in seinem ersten Bande eine „physikalisch chemische Einleitung und Methodik", welche Roloff geschrieben hat; sie orientiert in kürzester Form über Materie und Energie, Atom- und Molekulartheorie, die Aggregatzustände der Materie, über die Theorie der Lösungen, chemische Reaktionen, elektrolytische Dissoziation und Elektrochemie; diese Einführung mit ihrem vielseitigen die neuesten Errungenschaften berücksichtigenden Inhalt wird vielen Biologen sehr willkommen sein.

Den Interessen unserer Zeitschrift entsprechend sei besonders auf den Inhalt des von OKER-BLOM abgefaßten Aufsatzes über „Das Blut in physikalisch-chemischer Beziehung" hingewiesen.

Weiterhin bringt der erste Band folgende Aufsätze: A. LOEWY, Respiration; R. HÖBER, Die physikalische Chemie in der Physiologie der Resorption, der Lymphbildung und der Sekretion; H. BORUTTAU, Muskel- und Nervenphysiologie; F. BOTTAZZI, Die Regulation des osmotischen Druckes im tierischen Organismus. *Küster (Kiel).*

Schurig, W., Biologische Experimente nebst einem Anhang: Mikroskopische Technik. Ein Hilfsbuch für den biologischen Unterricht, insbesondere für die Hand des Lehrers, Studierenden und Naturfreundes. Leipzig (Quelle u. Meyer) 1909. 180 pp. 2·40 M.; geb. 2·80 M.

Dem Lehrer und dem Studierenden wird das vorliegende Büchlein, das eine Reihe pflanzen- und tierphysiologischer und -biologischer Versuche schildert, gewiß nicht immer genügen. An verschiedenen Stellen sind mir Ungenauigkeiten aufgefallen. Der die „Mikroskopische Technik" behandelnde Abschnitt gibt Anweisung zum Betäuben, Töten und Konservieren der Tiere, Anfertigung, Färbung und Aufbewahrung zoologischer Präparate u. a. m. *Küster (Kiel).*

2. Präparationsmethoden im allgemeinen.

Bonney, V., Eine neue und sehr schnelle Dreifach-Färbung (VIRCHOWS Arch. Bd. CXCIII, 1908, H. 3, p. 547—549).

Verf. hat im Jahre 1906 eine neue Methode einer Dreifach-Färbung veröffentlicht mit Safranin, Methylviolett und Orange G[1]. Jetzt hat er diese Methode derartig modifiziert, daß sie einfacher und sicherer geworden ist und statt einer Stunde nur 5 Minuten beansprucht. Methode: Lösung I:

Methylviolett	25·0
Pyronin	1·0
Destilliertes Wasser	ad 100·0

[1]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXIV, 1907, p. 155—156.

erwärmen bis zur Lösung und filtrieren. Lösung II: Zu 100 cc Aceton füge man langsam, Tropfen für Tropfen, aus einer Tropfflasche, eine 2prozentige wässerige Lösung von Orange G (erwärmt bis zur Lösung und filtriert) hinzu. Während man die Farblösung hinzufügt, rühre man das Gemisch energisch mit einem Glasstabe um. Sobald die Flüssigkeit eine zartgelbe Farbe bekommen hat, tritt eine leichte Trübung auf. Weiterer Farbzusatz macht dieselbe stärker, bis sich ein flockiger Niederschlag gebildet hat. Setzt man nun noch weiter Orange G, Tropfen für Tropfen, zu, so löst sich dieser Niederschlag bald. Jetzt filtriere man in eine Flasche und signiere „Orange-Aceton“. Es ist wichtig, die Orange G-Lösung sehr langsam zuzusetzen, da sonst der Niederschlag nicht erscheint. Nach 24 Stunden hat sich ein kristallinischer Niederschlag gebildet, der mit der Zeit noch zunimmt, aber die Wirksamkeit der Lösung nicht beeinträchtigt. Ausführung der Färbung: 1) Das Material wird fixiert in einer Mischung von Eisessig einen Teil, absoluter Alkohol 2 Teile, Alkohol oder Sublimatlösung, Chromsäureverbindungen und Formol machen die Methode unbrauchbar, wenn nicht unmittelbar nach der Färbung die Schnitte mit oxydierenden Agentien behandelt werden. 2) Färben in Lösung I während 2 Minuten. 3) Schnelles Abspülen in Wasser und Abwischen des Objektträgers „mit Ausnahme des Schnittes“. 4) Übergießen des Objektträgers mit Orange-Aceton. Es bildet sich eine dunkle Farbe. Abspülen und Wiederübergießen bis keine Farbe mehr herauskommt. 5) Schnelles Waschen in reinem Aceton. 6) Übertragen in Xylol, Balsam usw. Da das Aceton sehr flüchtig ist, achte man darauf, daß die Schnitte nicht eintrocknen. Die ganze Färbung dauert 5 Minuten oder weniger. Ist die Färbung zu stark oder zu schwach geworden, so bringe man die Schnitte durch Aceton in Wasser und beginne von neuem, bis der gewünschte Farbenton erzielt ist. Die ganze Chromatinsubstanz wird durch das Methylviolett gefärbt, wobei Mitosen und Kerne sehr deutlich hervortreten. Keratin färbt sich violett. Lymphocyten, deren Kern aus Chromatin besteht, färben sich ebenfalls violett. Das Protoplasma aller Zellen wird verschieden stark rot durch das Pyronin. Der Körper der Plasmazellen ist lebhaft gefärbt, ebenso der der Epithelzellen, besonders in den tieferen Lagen eines Plattenepithels. Das Protoplasma der fixen Bindegewebs- und Endothelzellen ist weniger stark gefärbt. Die bindegewebige Grundsubstanz nimmt durch das Orange G ebenso wie die Interzellularsubstanz zwischen Epithelzellen eine gelbe Farbe an.

Diese ausgesprochene Differenzierung der einzelnen Gewebselemente hat einen besonderen Wert bei Untersuchungen mit starken Vergrößerungen. Die Methode verdient, auch bei gewöhnlichen Untersuchungen infolge ihrer Schnelligkeit und Einfachheit statt des Hämatoxylins angewandt zu werden. Die Färbung ist beständig und kann auch mit der Weigertschen Färbung für elastische Fasern verbunden werden. Zur Färbung der Plasmazellen steht sie der Pappenheimschen Färbung gleich, doch differenziert sie die Mastzellen nicht so deutlich. Anderseits aber gibt sie gute Kontraste zwischen den verschiedenen Typen der Zellen, was die Pappenheimsche Färbung nicht leistet. Für Blutpräparate ist die Methode nicht geeignet. Arbeitet man mit künstlichem Lichte, so empfiehlt sich die Verwendung einer blauen Scheibe.

Schiefferdecker (Bonn).

Oelsner, L., Praktisches Gefäß zur völligen Entwässerung nicht gänzlich absoluten Alkohols (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. XXXIV, 1908, No. 47, p. 2034).

Verf. beschreibt ein durch eine Abbildung erläutertes Glasgefäß, das er besonders den mit Paraffin arbeitenden Histologen und pathologischen Anatomen empfiehlt. Dasselbe soll die folgenden Vorteile haben: 1) Vermöge seiner Konstruktion erlaubt es die Unterbringung einer größeren Anzahl verschiedener Objekte und schließt eine Verwechslungsmöglichkeit aus. 2) Ohne Lüftung des Deckels kann völlig wasserfreier Alkohol dem oberen Hahne des Gefäßes entnommen werden. 3) Das in einem Einsatze untergebrachte ausgeglühte Kupfersulfat ist durch Filtrierpapier so vom Alkohol abgeschlossen, daß bei reinlicher Hantierung während des Einfüllens ein Übergehen des Pulvers in die Flüssigkeit nicht vorkommt. 4) Der bei Umrandung mit Vaseline in eine Nute eintauchende Deckel schließt luftdicht ab. Betreffs der näheren Beschreibung und Gebrauchsanweisung wird auf das Original verwiesen. Der Apparat wird nach Angaben des Verf. von der Firma M. Schaerer, A.-G., in Bern gebaut.

Schiefferdecker (Bonn).

Hornowski, Gleichzeitige differenzielle Färbungsmethode des Bindegewebes, der Muskelfasern und der elastischen Fasern (Przegl. lekarski No. 44, 1908, Ref. n. Ber. in Deutsche med. Wochensch. Jahrg. XXXIV, No. 49, 1908, p. 2135).

Man braucht drei Lösungen:

Lösung I:	Hämatoxylin, kristallisiert	0·20 g
	Resorcin-Fuchsin (Grübler) . . .	0·02 „
	Alkohol, 70prozentig	100·00 cc
„ II:	Liquor ferri sesquichl. Pharm. . .	1·00 „
	Salzsäure, konzentriert, rein . . .	2·00 „
„ III:	Säurefuchsin	0·10 g
	Pikrinsäure, konzentrierte, wässerige Lösung	100·00 cc

Vor jedesmaliger Verwendung wird auf je 5 cc der Lösung I ein Tropfen der Lösung II zugesetzt, wodurch die Lösung I etwas dunkler wird, und in dieser Mischung wird das Präparat 12 bis 24 Stunden lang gefärbt. Dann schnelles Abspülen, Übertragen für eine halbe Minute in die Lösung III schnelles Abwaschen mit 96prozentigem Alkohol, ebenso mit Karbol-Xylol (1:3), dann Xylol, Balsam. Resultat: Bindegewebe rot, Muskel gelb, Zellkerne dunkelgrau, elastische Fasern fast schwarz. *Schiefferdecker (Bonn).*

3. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

A. Niedere Tiere.

Awerinzew, S., Über ein parasitisches Infusor aus dem Darm von Ophelia limacina (Rathke) (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XC, 1908, p. 334—342 m. 1 Tfl.).

In erster Instanz wurde das in Frage stehende Infusor natürlich im lebenden Zustande entweder einfach in einem Tropfen Darmsaft oder zusammen mit dem Darminhalt von Ophelia limacina untersucht, wobei im letzteren Falle mit Seewasser oder physiologischer Kochsalzlösung verdünnt wurde. Bei der Anfertigung von Dauerpräparaten wurde fast ausschließlich mit dem von Schaudinn empfohlenen Gemisch von einem Teil wässeriger konzentrierter Sublimatlösung und 2 Teilen absoluten Alkohols fixiert und mit Delafields Hämatoxylin oder Eisenhämatoxylin nach Heidenhain gefärbt. Bei einigen Präparaten wurde auch noch die Färbung mit eosinsaurem Methylenblau mit nachfolgender, sehr kurz dauernder Differenzierung in Aceton angewendet, der Einschluß derselben muß nach Passieren

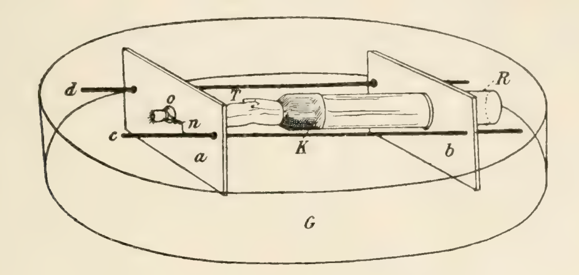
von Aceton-Xylol und reinem Xylol in neutralem Kanadabalsam erfolgen. Näheres über diese Methode, die hauptsächlich beim Studium der Anordnung der Kernelemente in der Zelle mit Erfolg angewendet werden kann, verspricht Verf. in einer späteren Arbeit zu geben.

E. Schoebel (Neapel).

Tschachotin, S., Die Statocyste der Heteropoden (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XC, 1908, p. 343—422 m. 15 Figg. u. 5 Tfln.).

Außer dem Studium der Statocysten in situ an lebendem Material werden selbstverständlich in weitgehendem Maße Untersuchungen an fixierten Objekten vorgenommen. Als Fixierungsmittel wurde verwendet Formol, Sublimat-Formol, Sublimat, Sublimat-Essigsäure, Perényis Flüssigkeit, Flemmings Gemisch, Osmiumsäure einprozentig und 0·1prozentig, Hermannsche Mischung und einprozentige wässerige Lösung von Kaliumbichromat. Die mit den letzten vier Reagentien behandelten Objekte konnten zum Teil ungefärbt untersucht werden, während nach den übrigen mit Boraxkarmin, Delafields Hämatoxylin, Hämalaun und besonders Eisenhämatoxylin gefärbt wurde. Außerdem kam noch Apáthys Vorvergoldungsmethode und die vitale Methylenblaufärbung mit Erfolg zur Anwendung. — Weiter wurden Zerzupfungs- und Mazerationspräparate hergestellt, wobei das Hertwigsche Osmium-Essigsäure-Gemisch die besten Dienste leistete. Schließlich wurden die Objekte auch auf Schnitten studiert, die mit Boraxkarmin-Bleu de Lyon, Boraxkarmin-Osmiumsäure-Holzessig oder Boraxkarmin-Hämatoxylin-Kaliumchromat-Hämalaun-Eosin oder schließlich mit Eisenhämatoxylin gefärbt waren. Physiologische Untersuchungen wurden entweder an isolierten Statocysten unter dem Deckglas oder in situ in einem eigens für diese Zwecke konstruierten Gestell zum Festhalten des Tieres gemacht. Letzteres besteht, wie nachstehende Figur veranschaulicht, aus zwei Holzplatten *a* und *b*, die miteinander durch zwei starke Metalldrähte *c* und *d* verbunden sind, und zwar derart, daß jene auf letzteren gegeneinander verschoben werden können. Die eine der beiden Holzplatten (*b*) besitzt in der Mitte ein größeres Loch, in welchem ein Glasrohr *R* steckt. In dieses wird das Tier *T* hineingeschoben und mittels eines Kautschukschlauchstückes *K* am Herausschlüpfen verhindert; der Rüssel des Tieres wird durch ein kleineres Loch *o* in der Platte *a* gezogen und hier mit einer Fadenschlinge am Stift *n* festgebunden. Das Gestell samt dem Tier wird in eine mit Seewasser gefüllte Schale *G*

gelegt und alles zusammen dann auf den Objekttisch des Mikroskopes gebracht. Durch Drehen des Rohres *R* um seine Längsachse kann das Tier bequem in jede beliebige Lage eingestellt werden, um die Statocysten von allen Seiten zu beobachten. Ein- oder beiderseitige



Exstirpation des Organes und verschiedene Nerven- oder Gangliendurchschneidung zusammen mit der vitalen Methylenblaufärbung gaben die Möglichkeit, die Grundzüge des Faserverlaufes im Cerebralganglion zu ermitteln. Zur Feststellung der chemischen Natur der Statolithen wurden schließlich eine Reihe mikrochemischer Reaktionen nach dem Lehrbuch der mikrochemischen Analyse von H. Behrens ausgeführt. *E. Schoebel (Neapel).*

Stantschinsky, W., Über den Bau der Rückenaugen und die Histologie der Rückenregion der Oncidien (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XC, 1908, p. 137—180 m. 1 Fig. u. 3 Tfln.).

Zur Untersuchung lag nur älteres, wohl ausschließlich in Alkohol konserviertes Sammlungsmaterial vor. Große Schwierigkeiten bot infolgedessen die Färbung. Brauchbar erwies sich Delafields Hämatoxylin, Säurefuchsin-Pikrinsäure nach van Gieson, Jod-Jodkali-Goldchlorid-Anilinwasser nach Nabias und Eisenhämatoxylin kombiniert mit Orange. Schließlich kam noch Tinktion mit Boraxkarmin und nachfolgende Methylenblaufärbung zur Differenzierung drüsiger und schleimiger Elemente zur Verwendung. Eingebettet wurde in Paraffin. *E. Schoebel (Neapel).*

Döring, W., Über Bau und Entwicklung des weiblichen Geschlechtsapparates bei myopsiden Cephalopoden (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCI, 1908, p. 112—189 m. 59 Figg.).

Zur Untersuchung diente Material, das im wesentlichen mit Sublimat oder Formol fixiert war; für Embryonen scheint aber Pikrinsäure bessere Resultate zu geben. Als Färbemittel bewährte sich neben Säurekarmin und Hämalaun vor allem noch Ehrlichs Hämatoxylin und Heidenhains Eisenhämatoxylin. Das Ausspringen des Dotters beim Schneiden wurde durch Überstreichen des Blockes mit sehr verdünntem Mastixkollodium leicht vermieden.

E. Schoebel (Neapel).

Philiptschenko, J., Beiträge zur Kenntnis der Apterygoten. 2. Über die Kopfdrüsen der Thysanuren (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCI, 1908, p. 93—111 m. 2 Figg. u. 2 Tfln.).

Ein Teil des Untersuchungsmaterials (Machilis, Ctenolepisma) wurde mit heißer Sublimat-Essigsäure, ein anderer (Campodea) mit heißer Jodjodkaliumlösung fixiert. Gefärbt wurden die Schnitte mit Hämatoxylin, Safranin, Thionin u. a. *E. Schoebel (Neapel).*

Montgomery, Th. H. jr., On the Maturation of Mitoses and Fertilization of the Egg of Theridium (Zool. Jahrb., Morph. Abt., Bd. XXV, 1907, p. 237—250 m. 2 Tfln.).

Die Eier wurden dem geöffneten Kokon entnommen und direkt in die Fixierungsflüssigkeit getan, immer die eine Hälfte in das Gilsonsche Gemisch (gesättigte Lösung von Sublimat in gleichen Maßteilen von absolutem Alkohol, Eisessig und Chloroform), die andere in das Towersche (95 Teile gesättigter Sublimatlösung in 35prozentigen Alkohol, 2 Teile Eisessig und 3 Teile Salpetersäure). Letztere Flüssigkeit wurde heiß, erstere kalt verwendet. Das Towersche Gemisch gibt sehr gute Resultate vor der Furchung, aber nur selten solche von späteren Stadien. Gilsons Flüssigkeit dagegen gibt ausgezeichnete Fixierung von den Kernteilungsfiguren aller Stadien und hat den weiteren Vorteil die Eihülle so vom Ei zu trennen, daß sie bequem abpräpariert werden kann, dafür aber den Nachteil, die Eiform weniger gut zu erhalten und die äußere Dotterschicht von der inneren abzuspalten, speziell während der ersten halben Stunde nach der Eiablage. Vor dem Färben und Einbetten wurde die äußere Eimembran immer entfernt. Die Entwässerung der Eier im Alkohol wurde rasch vollzogen und dabei dem absoluten Alkohol etwas Eosin zugesetzt, um die Eier leichter sichtbar für die Paraffineinbettung zu machen. Gefärbt wurden die Schnitte mit Delafields

Hämatoxylin kombiniert mit Eosin. Auch Totalpräparate wurden angefertigt und ebenfalls mit Delafields Hämatoxylin gefärbt.

E. Schoebel (Neapel).

B. Wirbeltiere.

Golodetz, L., u. **Unna, P. G.,** Zur Chemie der Haut (Monatsh. f. prakt. Dermatol. Bd. XLVII, 1908, p. 1—17 m. 1 Tfl.).

Verf. behandelt in dieser Arbeit den mikrochemischen Nachweis des Cholesterins in der menschlichen Haut. Man darf die Haut vorher nicht mit Lösungsmitteln des Cholesterins in Berührung bringen: Eine Fixierung in Alkohol und Einbettung in Celloïdin ist daher ausgeschlossen. Ferner ist es ratsam, das subkutane, stets cholesterinhaltige Fett, wenigstens größtenteils vorher zu beseitigen. Die Haut kann der Leiche entnommen werden, am besten der Kopfhaut, der Achselhöhle und Fußsohle. Das Hautstück wird frisch mit Chloräthyl vereist und in der Richtung von der Hornschicht zur Subcutis geschnitten, indem man dafür sorgt, daß nach jedem Zuge das fettig gewordene Messer durch Abwischen mit Äther oder Benzin gut gereinigt wird. Die Schnitte läßt man auf Objektträgern einzeln antrocknen, dann bringt man einen Tropfen des Reagenz von Golodetz auf ein Deckglas, bedeckt damit das Präparat und untersucht sofort. Das genannte Reagenz besteht aus einer Mischung von 5 Teilen konzentrierter Schwefelsäure und 2 Teilen Formalin (30 Prozent). In dieser Mischung werden die Schnitte nur sehr wenig angegriffen, es tritt eine schwarzbraune Farbenreaktion ein. Diese beginnt schon nach einer bis 2 Minuten. *Schiefferdecker (Bonn).*

Ciliano, P., Eleïdin (Monatsh. f. prakt. Dermatol. Bd. XLVI, 1908, p. 435—441).

Verf. hat versucht, die chemische Natur des Eleïdins zu erforschen, und zwar vorzugsweise unter Zuhilfenahme chemischer Reagentien resp. mikrochemischer Reaktionen. Nach dem, was bisher über Eleïdin bekannt geworden ist, konnte dieses entweder eine Eiweißsubstanz sein oder ein Glyzerinfett oder ein Lipoid oder eine Mischung dieser Substanzen. Es ergab sich, daß das Eleïdin ein genuines Eiweiß, und zwar ein Albumin ist. Hieraus ergibt sich dann auch, wie die Hautstücke, die zur Darstellung des Eleïdins

gebraucht werden sollen, am besten fixiert werden: Es darf keine albuminlösende Substanz verwendet werden, wohl aber fettlösende Substanzen. Als bestes Härtungsmittel empfiehlt Verf. einen kochsalzhaltigen starken Alkohol (0·2 Prozent Kochsalz in 96prozentigem Alkohol). Die gewöhnliche Celloïdineinbettung mit Alkohol und Äther kann benutzt werden. Wenn sich das Eleïdin in Hautstücken, die lange in Alkohol konserviert waren, manchmal nicht mehr nachweisen läßt, so liegt das nicht an dem Alkoholgehalte der Flüssigkeit, sondern an ihrem Wassergehalte. Man hat also bis zur Färbung des Eleïdins, welche an und für sich eine Art von Fixierung desselben bewirkt, vor allem einen längeren Aufenthalt in wässerigen Flüssigkeiten zu vermeiden (z. B. in verdünntem Alkohol). Gefärbt wurden die Schnitte in einer 0·5prozentigen wässerigen Lösung von Nigrosin (20 bis 30 Minuten oder länger), dann Alkohol, Bergamottöl und Kanadabalsam. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Gavazzeni, G. A., Trichohyalin (Monatsh. f. prakt. Dermatol. Bd. XLVII, 1908, p. 229—242).

Vörner hat im Jahre 1903 festgestellt, daß die Körnchen des Haarmarkes und der Wurzelscheide weder mit Keratohyalin noch mit Eleïdin identisch sind. Färberisch sind große Unterschiede festzustellen. Verf. hat nun durch seine Untersuchungen die am besten zur Färbung geeigneten Farbstoffe festzustellen versucht. Die besten Färbungen auf Trichohyalin geben folgende Farbstoffe bei langer Färbung (eine Nacht und länger) in sehr verdünnten Lösungen (0·1 bis 0·5 : 1000), z. B. einen bis 2 Tropfen der einprozentigen Farblösung auf ein Schälchen Wasser: a. Basische Farbstoffe: Safranin, Brillantgrün, Fuchsin. b. Saure Farbstoffe: Eosin, Pikrinsäure, Orange, Croceïn (die Lösung muß farbstärker sein), Ponceau (die Lösung muß wieder farbstärker sein), Karmine (besonders Alaunkarmin und Lithionkarmin): diese zeigen Keratohyalin und Trichohyalin in kontrastierenden Nuancen von rot. Als Kontrastfärbungen zwischen Trichohyalin und Keratohyalin werden die folgenden empfohlen: a. Hämalaun-Safranin-Tannin-Methode (Unna): Starkes Hämalaun eine Stunde; Wasser (lange Einwirkung); Safraninlösung (oder Safranin-Anilin-Lösung); 2prozentige wässerige Lösung 5 bis 10 Minuten; Wasser; gesättigte wässerige Tanninlösung 15 bis 30 Minuten; Wasser; Alkohol bis zu fast völliger Entfärbung. b. Hämalaun-Eosin-Methode: Hämalaun eine halbe bis eine Stunde; Wasser, lange Einwirkung; Eosin (2 Tropfen einer einprozen-

tigen wässerigen Eosinlösung in eine PETRI-Schale mit Wasser) 24 bis 48 Stunden; in Wasser gut abspülen; Alkohol, Öl, Balsam. c. Hämalaun-Pikrinsäure-Methode (GAVAZZENI): Hämalaun, eine Stunde lang; Wasser, sehr lange Einwirkung; Alkohol; gesättigte alkoholische Pikrinsäurelösung 2 Minuten; Alkohol, Öl, Balsam. d. Hämalaun-Pikroindigokarmin-Methode (GAVAZZENI): Hämalaun eine Stunde; Wasser, lange Einwirkung; Pikroindigokarmin 5 bis 10 Minuten; in Wasser gut abspülen; Alkohol, bis Farbstoff abgeht, Öl, Balsam. Statt des Hämalaun (MAYER) kann jede gute Alaun-Hämateïn-Lösung benutzt werden. *Schiefferdecker (Bonn).*

Lundahl, G., Beitrag zur Kenntnis der sogenannten Grenzfibrillen der Epithelzellen (Anat. Hefte, H. 112 [Bd. XXXVII, H. 2], 1908, p. 201—215 m. 3 Tfln.).

Die Untersuchungen wurden ausgeführt an dem Verdauungsrohre von Crustaceen (Maja squinado und Langusta), von Lumbricus terrestris und von Proteus anguineus. Fixiert wurde in CARNOYscher Flüssigkeit, gefärbt mit: WEIGERTS Elastinfärbung, Toluidin-Erythrosin, Säurefuchsin-Anilinblau-Orange (SCHMORL, G., Die pathologisch-histologischen Untersuchungsmethoden 1905), Eisenalaun-Hämatoxylin, kombiniert mit Säurefuchsin-Orange, Eosin, Thiazin, VAN GIESONS Pikrofuchsin. *Schiefferdecker (Bonn).*

Alagna, G., Über einige eigenartige Zellen in der Gaumentonsille eines Hundes und über ihre wahrscheinliche Bedeutung (VIRCHOWS Arch. Bd. CXCIV, 1908, H. 1, p. 46—51 m. 1 Tfl.).

Verf. fand in der Gaumentonsille eines Hundes eigenartige Zellen, die in breiten Bindegewebssepten lagen. Sie färbten sich mit Toluidin und Eosin intensiv blau. Bei Hämalaun-Eosin-Färbung trat eine geringe Kernfärbung ein. Bei Eisenhämatoxylin zeigten die in dem Protoplasma der Zellen befindlichen, zarten, bläschenartigen Gebilde eine feinkörnige Umhüllung. Mit Toluidin und Eosin sieht man in den Zellen dunkelblaue Schollen. *Schiefferdecker (Bonn).*

Dantschakoff, W., Untersuchungen über die Entwicklung des Blutes und Bindegewebes bei den Vögeln. I. Die erste Entstehung der Blutzellen beim Hühnerembryo und der Dottersack als

blutbildendes Organ (Anat. Hefte, H. 113 [Bd. XXXVII, H. 3], 1908, p. 473—589 m. 4 Tfln.).

Die Eier wurden in üblicher Weise in einer Glaswanne mit ausgehöhltem Wachsboden unter körperwarmer, physiologischer Kochsalzlösung (0·8 $^0/_0$) geöffnet. Nach Entfernung des Eiweißes über der Keimscheibe wurde dieselbe umschnitten und vom Dotter vorsichtig abgelöst. Bis zum Stadium von 3 Tagen wurde der Keim stets mit dem ganzen ihn umgebenden Gefäßhofe zusammen fixiert. Wurden Flächenpräparate gewünscht, so ließ Verf. die Keimscheibe zuerst sich auf der konvexen Fläche eines Uhrgläschens unter der Kochsalzlösung ausbreiten, nahm sie dann aus der Kochsalzlösung mit dem Glase heraus und tröpfelte einige Tropfen der Fixierungsflüssigkeit darauf. Nach einigen Sekunden ist die Keimscheibe mit ihrem Gefäßhofe tadellos in ausgedehntem Zustande fixiert, und sie kann dann in einer mit der Fixierungsflüssigkeit gefüllten Schale durch vorsichtiges Schwenken von der Oberfläche des Uhrgläschens abgelöst werden. Für Schnittpräparate ist diese Methode des Fixierens nicht vorteilhaft, für sie ist es besser, die Keimscheibe in die Fixierungsflüssigkeit mittels eines kleines Hornspatels zu überführen. In den Stadien von 3 bis 6 Tagen wurde ein Teil der Embryonen ebenfalls im Zusammenhange mit dem Gefäßhofe fixiert, andere wurden herausgeschnitten und der Gefäßhof wurde besonders fixiert. Bis zum siebenten Tage wurden die Embryonen zusammen mit Amnion und Allantois fixiert. Später, wenn die große Allantois den Embryonalkörper schon mit ihren Schichten bedeckt, löste Verf. zuerst ihren Rand ab, ließ den Embryo mit dem Amnion heraustreten und zerschnitt die Verbindung zwischen ihm und dem Dottersack zwischen zwei kleinen Klemmpinzetten, um den Austritt des Blutes von beiden Seiten her zu verhindern. Vom siebenten Tage an soll man, um eine gute Fixierung der inneren Organe zu erzielen, die vordere Rumpfwand der Länge nach aufschneiden und außerdem auch die Schädeldecke mit dem Oberkiefer abnehmen. In noch späteren Stadien muß man alle Organe einzeln fixieren. Der Dottersack wurde vom siebenten Tage an nach Zerteilung in einzelne Stücke ebenfalls in ausgedehntem Zustande mit Hilfe eines Uhrgläschens fixiert; es ist dabei vorteilhaft, den Dotter durch physiologische Kochsalzlösung möglichst vollständig zu entfernen und die mit zottenähnlichen Auswüchsen versehene innere Oberfläche nach außen zu kehren, damit sie unversehrt bleibt. Waren Schnittpräparate erwünscht, so wurde der ganze Dottersack mit der Innenfläche nach

außen umgestülpt, der Dotter wurde abgespült, die Wand in einzelne Teile zerschnitten und in die Fixierungsflüssigkeit gebracht. Fixiert wurde mit ZENKER-Formol (HELLY[1]), ferner für besondere Zwecke mit absolutem Alkohol und gewöhnlicher ZENKERscher Flüssigkeit: Ersterer für Mastzellen, die letztere in späteren Stadien zur Fixierung des lockeren Bindegewebes. Das Formol wurde zu der ZENKERschen Stammflüssigkeit immer vor dem Gebrauche zugesetzt und das Gemisch wurde dann vor der Fixierung auf 38 Grad erwärmt. Fixierungsdauer für ZENKER-Formol je nach der Dicke der Objekte 15 Minuten bis 4 Stunden. Bei diesen zarten embryologischen Objekten wurde das Auswaschen in Wasser besonders vorsichtig vorgenommen: Die jungen Keimscheiben wurden einfach von Gefäß zu Gefäß in destilliertes Wasser übertragen. Die größeren Embryonen wurden in fließendem Wasser ausgewaschen, nachdem sie vorher mit Mull umwickelt waren. Für die vorliegende Untersuchung war die Wahl der Einbettungsmasse von ganz besonderer Wichtigkeit: Paraffin erwies sich auch bei der vorsichtigsten Anwendungsweise als ganz unbrauchbar; Celloïdin war sehr gut; die Einbettung wurde ausgeführt nach RUBASCHKIN[2]; Verf. hat einige Modifikationen vorgenommen, über die vor kurzem berichtet worden ist[3]. Schnittdicke 5 bis 7·5 μ. Das Celloïdin wurde stets durch Alkohol-Äther entfernt. Zur Färbung wurden benutzt: Eosin-Azur-Mischung nach NOCHT (1 cc einer Lösung von Eosin w. g. 1:1000 wird mit 10 cc Wasser verdünnt und dann wird 1 cc einer Lösung von Azur II von 1:1000 hinzugesetzt, Färbung 2 bis 24 Stunden), die Lösung von GIEMSA (2 Tropfen auf einen cc Wasser, Färbung etwa 2 bis 4 Stunden), die Lösung von DOMINICI: Eosin-Orange-Toluïdinblau-Mischung (zuerst Färbung in einer Lösung von 0·3 g Orange G und 0·25 g Eosin, wasserlöslich, in 50 cc Wasser; Färbungsdauer 24 Stunden. Auswaschen in 60grädigem Alkohol, Schnitte junger Embryonen 3 bis 5 Sekunden, älterer bis zu 3 bis 5 Minuten. Dann Färbung in einer Lösung von 0·25 g Toluïdinblau in 50 cc Wasser während 0·5 bis 5 Minuten. Dann Differenzierung in 60grädigem Alkohol, längere Zeit für jüngere Embryonen, deren Zellen überhaupt weit stärker basophil sind, und kürzere Zeit für ältere Embryonen. Dann in gewöhnlicher Weise absoluter Alkohol,

---

[1]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. XX, 1903, p. 413—415.

[2]) RUBASCHKIN, Anat. Anz. Bd. XXXI, 1907; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXIV, 1907, p. 428—430.

[3]) DANTSCHAKOFF, Folia haematologica Jahrg. IV, 1907.

Xylol und neutraler, reinster Xylol-Balsam). Für die Flächenpräparate der Keimscheiben und des Dottersackes wurde ausschließlich die Färbung von Dominici gebraucht; sie leistet hier ganz Ausgezeichnetes, während die beiden anderen Niederschläge erzeugen. Während die gefärbten Celloïdinschnittserien in allen Fällen sich als äußerst dauerhaft erwiesen, entfärbten sich die nach Dominici gefärbten Flächenpräparate der Keimscheiben mit dem Gefäßhofe und Stücke der Dottersackwand im Balsam sehr rasch. Es geschieht dies namentlich in solchen Flächenpräparaten und an solchen Stücken derselben, wo sich große mit Blut gefüllte Gefäße der Dottersackwand oder im Entoderm große mit Eosin gefärbte Dottermassen befinden. Es ist deshalb ratsam, nach der Eosin-Orange-Färbung das Präparat sehr gründlich mit 60grädigem Alkohol auszuwaschen und erst dann mit Toluïdinblau nachzufärben. Am besten ist es, die Stellen mit vielem Dotter und mit großen Gefäßen aus der Dottersackwand ganz herauszuschneiden. Verf. hebt noch besonders hervor, daß man für alle Präparate, die nach den angegebenen Methoden gefärbt worden sind, nur den reinsten, neutralen Kanadabalsam gelöst in ganz reinem Xylol verwenden darf, da die Färbung sonst schon nach einigen Tagen verbleicht. Mastzellen wurden nach Alkoholfixierung mit alkoholischer Lösung von Kresylechtviolett oder mit Thioninlösung gefärbt. Die erstere wurde mit etwas Essigsäure angesäuert, die zweite mit Sodalösung alkalisch gemacht.

Schiefferdecker (*Bonn*).

Saigo, Y., Die Purkinjeschen Muskelfasern bei Erkrankung des Myokards (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XLIV, 1908, H. 2, p. 296—310, m. 1 Tfl.).

Das Herz wurde nach der Krehlschen Methode senkrecht zur Längsachse in Scheiben von einem bis 1·5 cm Dicke zerlegt, die erst in Formol, dann in steigendem Alkohol fixiert wurden. Von so gehärteten Herzen wurden Herzspitze, Papillarmuskeln beider Ventrikel, hintere Wand des linken Ventrikels, Septum ventriculorum, der Konusteil des rechten Ventrikels, Teile des rechten und linken Vorhofes in Paraffin eingebettet. Die Schnitte wurden mit den verschiedenen Färbemethoden: Hämatoxylin-Eosin, Methode von van Gieson, Safranin (1prozentige Lösung), mit Thiacinbraunvorbeizung (1 Prozent), Eisenhämatoxylin (Heidenhain) behandelt, außerdem wurden Frostschnitte mit Sudan auf Fett untersucht. Die Heidenhainsche

Methode wurde in folgender Weise angewendet: Die Schnitte wurden in der 2·5prozentigen Lösung von Eisenammoniumoxyd eine bis 2 Stunden gebeizt und dann nach Abspülen mit Wasser in 0·5prozentiger wässeriger Hämatoxylinlösung 6 bis 20 Stunden gefärbt; dann Abspülen mit Leitungswasser und Differenzieren in der zur Beizung benutzten Lösung von schwefelsaurem Eisenammoniumoxyd, bis das Bindegewebe mit Ausnahme der Kerne vollständig entfärbt ist. Der Ausfall der Färbung ist ein sehr verschiedener, je nachdem die Schnitte länger oder kürzer mit Eisen und Hämatoxylin behandelt werden. Bei kurzer Einwirkung (eine halbe bis eine Stunde) ist der Farbenton blau, die Kernstruktur sehr deutlich, bei längerer Beizung und Färbung werden die Kerne intensiv schwarz, ebenso die kontraktilen Substanzen der Muskelfasern, und das Sarkoplasma bleibt farblos. Bei der Differenzierung kommt es sehr häufig vor, daß die Purkinjeschen Muskelfasern sich früher entfärben als das Myokard, was auf den geringeren Gehalt an kontraktilen Substanzen zurückzuführen ist. Das zur Untersuchung kommende Material muß frisch sein.

Schiefferdecker (Bonn).

Kroh, F., Studien über den Bau der Synovialmembran und die Resorption des Gelenkinhaltes unter dem Einflusse variabler mechanischer Momente (Deutsche Zeitschr. f. Chirurgie Bd. XCIV, 1908, H. 3, 4, p. 215—240).

Die fötalen Kniegelenke entstammten dem dritten bis achten Embryonalmonate. Technik: Fixierung in Formalin, Entkalkung in Salpetersäure, wenn erforderlich, Paraffineinbettung; Sagittalschnitt bei Untersuchung des ganzen Gelenkes neben Oberflächenschnitt und Querschnitt bei Verarbeitung besonderer Gelenkteile, Färbung nach van Gieson. Bei den älteren Präparaten, die teils im Querschnitte, hauptsächlich aber im Oberflächenbilde untersucht wurden, kam es darauf an, zu entscheiden, ob die Gelenk-Innenschicht als Endothel oder überhaupt endothelähnliches Gebilde anzusprechen sei. Die beiden zur Entscheidung gangbaren Untersuchungswege gingen aus von dem Nachweise des Zellprotoplasmas in Form einer charakteristischen Färbung (benutzt wurden: Alaunkarmin, Hämatoxylin nach Hansen, Eosin) und dem spezifischen Nachweise der Interzellularsubstanz unter dem Einflusse imprägnierender Mittel: Silbernitrat: Leichtes Ausschwenken der durch Schere oder Rasiermesser abgetragenen Teile in physiologischer Kochsalzlösung, Auftragen einiger

Tropfen einer 0·5prozentigen Lösung von Silbernitrat, deren Verwendung sich stets bewährte und keine Trugbilder (Verätzung) lieferte; nach einer Sekunde Abspülen in Kochsalzlösung zur Verhütung einer Tiefenwirkung, Bestrahlung mit Sonnenlicht bis zu leichter Braunfärbung, Untersuchung in Glyzerin oder Kanadabalsam, nach Härtung in steigendem Alkohol und nachträglicher Kernfärbung. — Um das Saftkanalsystem nachzuweisen, injizierte Verf. zunächst eine einprozentige Lösung von Berlinerblau in die subsynoviale Schicht, doch wurden so nur tiefe, unter der Oberfläche gelegene, stets von Blutkapillaren überkreuzte Lymphgefäße gefüllt und ungefähr mit diesen in gleicher Höhe verlaufende Saftspalten. Um die Frage betreffs des Übertrittes des Gelenkhöhleninhalts in die Lymphbahn zu studieren, eignet sich besonders eine Tuscheaufschwemmung: Freilegung der Kniegelenkkapsel vom lateralen Bauche des Quadriceps aus, die Kapselöffnung wurde sofort nach Injektion von 1 cc der sterilisierten Tuscheaufschwemmuug wieder unterbunden, die zur Verhütung forcierter Bewegungen in tiefer Narkose gehaltenen Tiere wurden in Zeiträumen von 2 bis 4 bis 6 bis 10 Minuten nach Einverleibung des Farbstoffes abgetötet. Narkotisiert wurde stets mit Äther-Chloroform, Tropfmethode. Die Synovialmembran zeigte sich dann, abgesehen von Gelenk- und Quadricepsknorpel, in ganzer Ausdehnung schwarz imprägniert. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Di Christina, G., Die sekretorischen Funktionen der Magendrüsen unter abnormen Bedingungen der Innervation und Kanalisation des Organs (Virchows Arch. Bd. CXCIV, 1908, H. 1, p. 32—46 m. 1 Tfl.).

Verf. stellte zunächst Untersuchungen über die Absonderung unter normalen Bedingungen an: Gesunde Tiere, die 2 oder 3 Tage lang regelmäßig ihre Nahrung erhielten, ehe sie dem Experimente unterzogen wurden. Nach dieser Zeit erhielten sie das Versuchsfutter, das aus Brot und Wasser oder aus Fleisch, Brot und Milch bestand. Die Tiere wurden entweder auf dem Höhepunkte dieses Verdauungsprozesses (2 oder 3 Stunden lang nach der Fütterung) oder im Hungerzustande durch Verblutung getötet. Die Schleimhaut wurde sogleich in Altmannscher Flüssigkeit fixiert. Bei der Paraffineinbettung Erwärmung bis höchstens 45 Grad. Färbung mit der Methode von Galeotti. — Sodann wurde der Einfluß des Vagus auf den Vorgang der Erzeugung und Ausscheidung der Sekretionsgranula untersucht. Es wird wegen der hierbei angewendeten mehr physio-

logischen Technik auf das Original verwiesen. Dasselbe gilt von dem dritten Teile der Arbeit. *Schiefferdecker (Bonn).*

Nageotte, J., Technique rapide pour colorer les fibres à myéline des nerfs, de la moëlle et du cerveau [Formol simple ou sulfaté, congelation, hématéine alunée] (C. R. Soc. Biol. Paris t. LXV, 1908, no. 31, p. 408—410).

Verf. beschreibt eine Methode zur Färbung der markhaltigen Nervenfasern, welche auf derselben Basis beruht, wie die von Weigert, aber erheblich kürzer und einfacher ist. Nerven, Rückenmark und die weißen Teile des Gehirns können in 10prozentigem Formol fixiert werden; durch diese Fixierung werden aber die feinsten Rindenfasern verändert. Um eine ganz vollkommene Fixierung zu erhalten, setzt Verf. daher noch schwefelsaures Natrium hinzu und empfiehlt die folgende Mischung:

Wasser	900 Teile
Formol	100 „
Schwefelsaures Natrium	10—70 „

Diese Mischung fixiert die anderen Elemente ebensogut, wie die einfache Formollösung, sie hindert weder die Methode von Nissl noch die von Bielschowsky. Die starken Lösungen haben den Vorteil, schwerer zu sein als das Gehirn, das daher schwimmt und sich nicht deformiert, sie haben aber den Nachteil, daß die Gewebe stärker schrumpfen und viel langsamer fixiert werden, als in der einfachen Formollösung. Verf. vermag nicht anzugeben, ein wie starker Zusatz von schwefelsaurem Natrium die besten Resultate ergibt, er kann nur sagen, daß der Zusatz dieses Salzes nützlich ist. Man fertigt dann Frostschnitte an, überträgt sie in Wasser und entfettet sie vor der Färbung mit Alkohol: es genügt, sie mit absolutem Alkohol zu benetzen, wenn sie auf dem Objektträger ausgebreitet sind: auf diese Weise verändern sie nicht ihre Form. Ein längerer Aufenthalt im Alkohol schadet der Färbung nicht, läßt aber die Schnitte schrumpfen, besonders die des Rückenmarkes. Die Entfettung geht um so leichter vor sich, je besser die Stücke fixiert sind. Färbung mit Hämalaun (P. Mayer). Man färbt am besten auf dem Objektträger, indem man einige Tropfen auf den Schnitt heraufgießt in einer feuchten Kammer im Ofen eine halbe Stunde lang. Rückenmarkschnitte kann man auch über einem

Bunsenbrenner erwärmen, bis Dämpfe aufsteigen (etwa eine Minute). Die von den Schnitten wieder abgegossene Farblösung kann wieder verwandt werden. Nach Auswaschen in Wasser wird der Schnitt differenziert in der Borax-Blutlaugensalz-Lösung von Weigert, die man mehr oder weniger stark verdünnt, dann Abwaschen und Aufheben in üblicher Weise. Man muß sorgfältig auswaschen und kann mit Vorteil eine Spur Ammoniak dem Wasser zusetzen. Die Differenzierung nach Pal gibt nicht so gute Resultate. — Anwendung auf große Gehirnschnitte. Man kann das Gehirn durch bestimmte Mikrotome in Scheiben von 1 cm Dicke zerlegen, solche Scheiben frieren und schneiden sich leicht; die günstigste Temperatur liegt zwischen ein und zwei Grad. Man kann die gewonnenen Schnitte mit Hilfe eines Pinsels aufheben und in Wasser übertragen und mit Pinsel und Nadel in beliebiger Weise weiter behandeln. Um sie zu färben läßt man sie, damit sie sich entfalten, auf Wasser schwimmen, fängt sie auf einem gut gereinigten Objektträger auf, benetzt sie mit absolutem Alkohol und läßt sie von neuem in Wasser schwimmen, fängt sie wieder mit einem Objektträger auf, läßt abtropfen, übergießt sie mit Farbstoff, nachdem man sie mit Hilfe eines heißen Drahtes mit einem dünnen Paraffinrahmen umgeben hat, der die Farbflüssigkeit vor dem Abfließen schützt. Nach einem halbstündigen Aufenthalt in der feuchten Kammer im Ofen können die Schnitte differenziert werden. Man muß darauf achten, daß sie infolge der Durchtränkung mit dem Farbstoffe hart und brüchig geworden sind. Durch die Differenzierung werden sie aber wieder weich und können aus einem Gefäße in das andere übertragen werden. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Collin, R., Les variations de structure à l'état normal du noyau de la cellule nerveuse somatochrome chez le Cobaye (C. R. de l'Assoc. des Anat. 10. réunion, Marseille, 1908; Bibliogr. Anat. Suppl. 1908, p. 21—29 av. 5 figg.).

Fixierung in 10prozentigem Formol oder in Formol-Pikrinsäure-Essigsäure. Färbung mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain, mit der Heldschen Methode (Erythrosin, Nissl-Färbung), Toluidinblau, Safranin-Lichtgrün, Eosin-Lichtgrün, mit der Silbermethode von Cajal; die Doppelfärbung mit Eosin und Glychämalaun ergab sehr scharfe und besonders interessante Bilder. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Schütz, Die Silberimprägnation der Neurofibrillen nach Bielschowsky (Neurol. Zentralbl. Jahrg. XXVII, 1908, No. 19, p. 909—911).

Verf. hat bei seinen Untersuchungen mit der Fibrillenmethode von Bielschowsky stets negative Erfolge in Bezug auf die Fibrillenfärbung erhalten, trotzdem er sich genau an die von Bielschowsky gegebenen Vorschriften gehalten hat. Er hat durch Versuche gefunden, daß die Zeiten, die in den Vorschriften für die einzelnen Abschnitte des Verfahrens angegeben sind, zu kurz bemessen sind. Methode des Verf.: 1) Verf. imprägniert nur die Querschnitte, die sich mit Hilfe der Kohlensäuremikrotome in einer Dicke von 5 bis 10 μ sehr leicht anfertigen lassen. Die zu diesem Zwecke aus dem in 10prozentigem Formalin (Schering) gehärteten Gehirne herausgeschnittenen Blöcke können eine ziemliche Größe besitzen und werden vor dem Schneiden eine bis anderthalbe Stunde lang gewässert. Die Schnitte selbst werden nochmals 2 bis 3 Stunden lang in destilliertem Wasser ausgewaschen. 2) Die Schnitte kommen 24 Stunden lang in eine 2prozentige Lösung von Argentum nitricum (Merk-Darmstadt). 3) Bevor die Schnitte nun in die ammoniakalische Silberlösung kommen, wässert Verf. sie in destilliertem Wasser nochmals 24 Stunden aus. In der ammoniakalischen Silberlösung selbst verbleiben die Schnitte 30 bis 40 Minuten. 4) Nach raschem Durchziehen durch destilliertes Wasser kommen die Schnitte 24 Stunden lang in eine 20prozentige Formollösung, die mit Wasserleitungswasser herzustellen ist. Das im Handel befindliche Formalin von Schering hat in der angegebenen Verdünnung bis jetzt gute Resultate geliefert. 5) Zur Gewinnung von Dauerpräparaten kommen die Schnitte jetzt 10 Minuten lang in Eisessigwasser (Wasser 10 cc, Eisessig 2 Tropfen) und dann 30 bis 45 Minuten lang in eine Mischung von destilliertem Wasser 10 cc mit 3 Tropfen einer einprozentigen Goldchloridlösung (Merk-Darmstadt). Die Schnitte nehmen einen grau-schwärzlichen Farbenton an. Einen rötlich-violetten Farbenton, wie Bielschowsky es verlangt, hat Verf. nie erhalten. 6) Zur Entfernung des ungenügend reduzierten Silbers kommen die Schnitte 3 bis 5 Minuten lang in eine 5prozentige Lösung von Natriumthiosulfat, dem einige Tropfen einer konzentrierten Lösung von saurem schwefligsaurem Natrium zugesetzt sind (auf 10 cc der Lösung von Natriumthiolsulfat einen Tropfen der Lösung von saurem schwefligsaurem Natrium). 7) Auswaschen der Schnitte in destilliertem Wasser (24 Stunden), Entwässerung in steigendem

Alkohol (12 Stunden), Aufhellung in Karbolxylol, Einbettung in Kanadabalsam. Es dürfen bei dem Verfahren nur Glasinstrumente gebraucht werden. Die Glasschalen müssen vollkommen sauber sein und die Glasstäbe müssen stets abgetrocknet werden, bevor sie mit einer zweiten Flüssigkeit in Berührung kommen. Ist das zu imprägnierende Material alt und überhärtet, so genügen die hier vorgeschriebenen Zeiten auch nicht mehr, sondern müssen verlängert werden. Man muß den Farbenton, den die Schnitte nach den einzelnen Abschnitten besitzen müssen, kennen, um die Zeitdauer danach einzurichten. Auch die Benutzung einer stärkeren als 2prozentigen Lösung von Argentum nitricum kann nötig werden, wenn die Schnitte nach einem bis 2 Tagen den bräunlichen Farbenton durchaus noch nicht annehmen wollen. Es empfiehlt sich daher, für den Anfang, frisches Material zu imprägnieren, das etwa 14 Tage lang in 10prozentigem Formalin gehärtet worden ist. Die Methode wird dann keine großen Schwierigkeiten bereiten. Die so erhaltenen Präparate haben einen dunkelblauen, etwas in dunkelbraun hinübergreifenden Farbenton. Wie lange sie haltbar sind, vermag Verf. noch nicht anzugeben. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Duesberg, J., La spermatogénèse chez le rat [Mus decumanus Pall., variété albinos] (Inaug-Diss. Leipzig, Wilhelm Engelmann, 1908, 102 p. m. 2 Tfln.; Sep. aus Arch. f. Zellforschung Bd. I u. II).

Die dem eben getöteten Tiere entnommenen Hoden werden vorsichtig von ihrer Albuginea befreit, was bei der Ratte leicht gelingt. Es geschah dieses unter einer geringen Menge der verdünnten Fixierungsflüssigkeit. Dann kommt das Organ in die Fixierungsflüssigkeit entweder ganz, oder nachdem es mit der Schere in kleine Stücke zerlegt ist. Im ersten Falle entnahm Verf. dem Hoden, nachdem er eine Zeitlang gehärtet war, eine dünne oberflächliche Schicht, die dann allein weiter fixiert und später verwandt wurde. Zur Fixierung wurden benutzt Eisessig-Sublimat (5 Prozent und die Flemmingsche und Hermannsche Flüssigkeit (eine bis 6 Wochen); die letzteren ergaben die besten Präparate. Die Mitochondria wurde nach der Methode von Benda in der Modifikation von Meves und dem Verf. angewendet. (Diese Modifikation besteht hauptsächlich in der Anwendung einer frisch zubereiteten Lösung von Kristallviolett anstatt der von Grübler nach den ersten Angaben von Benda gelieferten Lösung.) Die Mitochondria wurde

gleichfalls gut gefärbt in bestimmten Präparaten nach FLEMMINGscher Lösung und nach Sublimat bei Färbung mit Eisenhämatoxylin. Schnitte durch den Nebenhoden mit den dort befindlichen Spermatozoen wurden mit der Goldchloridmethode von RANVIER (Zitronensaft, einprozentige Goldchloridlösung, angesäuertes Wasser), behandelt, bei der besonders der Spiralfaden gut hervortritt. Die erwachsenen Spermatozoen wurden entweder lebend in physiologischer Kochsalzlösung untersucht, oder nach Antrocknung, oder nach Fixierung durch die Dämpfe einer 2prozentigen Osmiumsäurelösung: nach dieser Fixierung mitunter Färbung mit Alaunkarmin (24 Stunden) oder Eisenhämatoxylin. Mazeration der Spermatozoen wurde ausgeführt nach JENSEN und BALLOWITZ. *Schiefferdecker (Bonn).*

Ogushi, K., Zur Herstellung von Demonstrationspräparaten des Amphibieneies (Anat. Anz. Bd. XXXIII, 1908, No. 15, p. 381—382).

Verf. verfährt folgendermaßen: Er zieht einen dicken, hohen Ring stark erhitzten Kanadabalsams auf dem Objektträger, wie man es beim Einschließen der Knochen- oder Zahnschliffe zu tun pflegt. Dann bringt er das Stück des Laiches, das vorher mit Chromessigsäure oder auch mit ZENKERscher Flüssigkeit oder auch mit Sublimat allein behandelt worden ist, nachdem es ausgewaschen worden und in einer 0·5prozentigen Formalinlösung konserviert worden ist, in dieser Lösung in den Innenraum des Balsamringes. Hierbei muß man genau aufpassen, daß die Größe der Gallertmasse dem Inhalte des Balsamringes gleichkommt, weil sonst verschiedene Übelstände eintreten können, wie z. B. große Luftbläschen, die sich auch bei der Verflüssigung der Gallerthülle entwickeln. (Die Gallerthülle löst sich in der 0·5prozentigen Formalinlösung im Laufe etwa eines halben Jahres von selbst auf.) Nun legt man ein schwach erhitztes Deckglas auf den Balsamring und drückt es nur leicht an. Nachdem das Ganze abgekühlt ist, wird die erstarrte Oberfläche des Balsams lackiert, um das Deckglas sicher zu fixieren; hierzu wird schwarzer Firnis verwandt. Die so hergestellten Präparate werden dann, vor Staub geschützt, ein halbes Jahr oder noch länger ruhig hingelegt, damit die Gallerte inzwischen die „Reifung“ erlangt und von selbst vollkommen flüssig wird. Die eingeschlossenen Eier schwimmen dann in einer Flüssigkeit und lassen sich nach allen Richtungen rollen. Schrumpfung tritt nicht ein.

Schiefferdecker (Bonn).

C. Mikroorganismen.

Barber, M. A., The rate of multiplication of Bacillus coli at different temperatures (Journ. of infect. diseases vol. V, 1908, no. 4, p. 379).

Der Apparat, den sich Verf. zur mikroskopischen Isolierung einzelner Bakterien konstruiert hat, besteht aus folgenden Teilen.

Auf dem beweglichen Objekttisch wird eine gläserne feuchte Kammer plaziert, derart, daß sie durch den Mechanismus des Objekttisches hin- und hergeschoben werden kann.

Über der feuchten Kammer liegt ein breites sterilisiertes Deckglas; unten in der Kammer steht etwas Wasser, die Seitenwände sind inwendig mit feuchtem Filtrierpapier bedeckt. Auf der Unterseite des Deckglases hängen einige Tropfen steriler Nährbouillon (oder Gelatine oder Agar) und ein Tropfen der bakterienhaltigen Flüssigkeit. Von links kann eine sehr feine Pipette, deren Spitze in ein nach oben gebogenes Kapillarröhrchen ausgezogen ist, eingeführt werden. Das andere Ende der Pipette ist mit einem Gummischlauch verbunden und ruht in einem Halter, der durch einen eigenen Schraubenmechanismus gehoben und gesenkt werden kann. Man bringt den Tropfen bakterienhaltiger Flüssigkeit mit Hilfe des beweglichen Objekttisches ins Gesichtsfeld des Mikroskops und hebt die Pipette so weit, daß die Spitze einen kleinen Teil der Flüssigkeit aufsaugt. Je nach dem Bakterienreichtum der letzteren werden einige oder auch nur ein einzelner Mikroorganismus in die Kapillare eindringen. Nötigenfalls führt man mit einem der am Deckgläschen hängenden Tropfen eine Verdünnung des Bakterienmaterials aus.

Wegen der Einzelheiten der Konstruktion des Apparates ist auf die Originalabhandlung zu verweisen. *Küster* (*Kiel*).

Nuttall, G. H. F., a. Graham-Smith, G. S., The development of Piroplasma canis in culture (Parasitology vol. I, 1908, no. 3, p. 243—260).

Piroplasma canis kultivierten die Verff. in einer Mischung von 0·5 cc defibriniertem Blut und 0·5 cc einer 0·6- oder 0·8prozentigen Salzlösung; statt letzterer kam auch die gleiche Quantität folgender Lösung zur Verwendung:

Chlornatrium	0·95 Prozent
Chlorkalium	0·025 „
Chlorcalcium	0·02 „
Natriumkarbonat	0·15 „
Dextrose	0·1 „
Destilliertes Wasser	100 cc.

Küster (*Kiel*).

Manicatide, Diagnostic bactériologique de la méningite tuberculeuse (Compt. Rend. Soc. Biol. t. LXV, 1908, p. 523).

Es wird folgende Methode zur Konstatierung der Tuberkelbazillen bei tuberkulöser Meningitis empfohlen. Man füllt eine große Menge von sterilen Reagenzgläsern à 20, 40, 80 cc mit Rückenmarkflüssigkeit; nach 10 bis 12 bis 24 Stunden erhält man in den Gläsern ein leichtes, manchmal spinnengewebeartiges Gerinnsel. Das frische Gerinnsel wird vorsichtig mit einer sterilen Platinnadel herausgenommen, auf einen Objektträger ausgebreitet, in feine Fibrillen auseinandergelöst, dann fixiert man und färbt nach den gewöhnlichen Methoden. Die Bazillen sind manchmal leicht zu finden, manchmal liegen sie aber isoliert; es ist daher zu raten, von vielen Reagenzgläsern Präparate anzufertigen. *G. Seliber* (*Paris*).

Bruckner, J., Sur la fermentation des sucres par le méningocoque et le micrococcus catarrhalis (Compt. Rend. Soc. Biol. t. LXIV, 1908, p. 765).

Verf. gebraucht Ascites-Bouillon mit Neutralrot, um Meningococcus von Micrococcus catarrhalis zu unterscheiden; die Bouillon soll ein wenig alkalisch auf Lackmus reagieren. Neutralrot wird zu Ascites-Bouillon hinzugesetzt; diese behält eine leicht gelbliche Färbung. Die Rassen Meningococcus II und M. III geben dann in Bouillon mit ein Prozent Maltose am zweiten Tag eine kirschrote, leicht fluoreszierende Färbung, die dann in Rubinrot übergeht; mit Glukose erscheint am zweiten Tage eine kanariengelbe Färbung mit grüner Fluoreszenz, die in den folgenden Tagen stärker wird, andere Zuckerarten geben keine Färbung.

Rasse Meningococcus I gibt dieselbe Reaktion mit Maltose, aber erst nach 5 Tagen, in Glukosenährlösung erhält man eine kirschrote Färbung, die kaum fluoresziert; in Lackmusnährlösung wird weder Glukose nach Maltose von dieser Rasse angegriffen. Die beiden

Catarrhalisrassen führen keine Veränderungen in Ascites-Bouillon mit Neutralrot herbei.

Wenn sich diese Reaktion für eine größere Menge von Rassen bestätigen sollte, so kann sie zur Differenzierung von Meningococcus und Micrococcus catarrhalis dienen. *G. Seliber (Paris).*

Escallon, J., et **Sigre, A.,** Recherche de l'indol dans les cultures microbiennes à l'aide du furfurol (Compt. Rend. Soc. Biol. t. LXV, 1908, p. 507).

Zu 10 cc Kultur fügt man ebensoviel von einer frischen alkoholischen Furfurollösung (1 auf 50), dann Tropfen nach Tropfen reiner HCl hinzu; enthält die Kultur Indol, so bekommt man eine orangegelbe Färbung; die Färbung erscheint sogleich nach dem Zufügen von HCl, aber es wird empfohlen, so lange mit dem Zufügen fortzufahren, bis die Färbung nicht mehr intensiver wird. Bei Erwärmung geht die Reaktion schneller. Es wurden auf Indol Colibazillen, Choleravibrionen und Diphtheriebazillen untersucht.

G. Seliber (Paris).

Buard, G., Recherche de l'indol dans les cultures microbiennes (Compt. Rend. Soc. Biol. t. LXV, 1908, p. 158).

Zu 10 cc der Kultur in Peptonwasser (nach 15 bis 20 Stunden im Thermostaten) fügt man 5 bis 6 cc absoluten Alkohol, man mischt und gibt 1 cc alkoholischer Vanillinlösung (0·02 Prozent) zu und endlich 3 cc reiner Salzsäure. Mit Indol erhält man eine Rosafärbung, die nach einigen Stunden in Magentarotfärbung oder Rotviolettfärbung übergeht; bei leichter Erwärmung geht die Reaktion schneller vor sich. Pepton-Defresne gibt Rosafärbung mit Safrannuance. Diese von Dénigès empfohlene Reaktion ist nach dem Verf. derjenigen von Nonnotte und Demanche[1] vorzuziehen. — Pepton Witte und Defresne geben die besten Resultate. *G. Seliber (Paris).*

Sigre, A., Au sujet du rouge neutre comme indice du Colibacille (Compt. Rend. Soc. Biol. t. LXVI, 1909, p. 153).

Verf. prüft, ob Bouillon von Sauvage (vgl. Braun, Le rouge neutre et le diagnostic rapide de la souillure des eaux de boisson

[1]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXV, 1908, p. 361.

par le coli bacille; Bull. de l'Inst. Pasteur 1906, p. 563) mit Glukose, Laktose oder Dextrose à 1 Prozent zur Differenzierung von Colibazillen zu gebrauchen ist. Es wird gefunden, daß B. pyocyaneus, Paratyphus (Schottmüller und Saquépée) u. a. mit Neutralrot eine gelbe Fluoreszenz geben; wenn diese nicht die charakteristische kanariengelbe Färbung des Colitypus ist, so verhalten sich viele Colibacillusstämme aus Wasser und Fäces ebenso. Neutralrot kann daher nicht als spezifisches Reagenz für Colibazillus angesehen werden. Um als Colibazillus sicher erkannt zu werden, muß ein Bazillus auch die anderen üblichen Reaktionen zeigen. *G. Scliber (Paris).*

Harrison, F. C., a. Van der Leck, J., Aesculin bile salt media for water analysis (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 2, Bd. XXII, 1909, No. 18/23, p. 547).

Harrison, F. C., a. Van der Leck, J., Aesculin bile salt media for milk analysis (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 2, Bd. XXII, 1909, No. 18/23, p. 551).

Aesculin wird durch bestimmte Mikroorganismen hydrolytisch gespalten, derart, daß Zucker und Aesculatin entsteht. Das letztere gibt mit Eisen (zitronensaurem) eine dunkelbraune Verbindung. Verff. stellen sich ihre Nährböden folgendermaßen her:

Pepton (Witte)	1—2 Prozent
Taurocholsaures Natrium	0·5 „
Aesculin	0·1 „
Eisen, zitronensaures	0·05 „
Wasser	100 cc.

Die Reaktion, welche z. B. unter dem Einfluß von B. coli und B. lactis aërogenes eintritt, wird durch folgende Gleichung veranschaulicht:

$$\underset{\text{Aesculin}}{C_{15}H_{16}O_9} + H_2O = \underset{\text{Zucker}}{C_6H_{12}O_6} + \underset{\text{Aesculatin.}}{C_9H_6O_4}$$

Die Kolonien der wirksamen Bakterienspezies bekommen auf den Aesculinnährböden einen schwärzlichen Hof.

Verff. benutzen die Nährböden auch zur bakteriologischen Prüfung von Milch. *Küster (Kiel).*

Fontes, A., Untersuchungen über die chemische Natur der den Tuberkelbazillen eigenen Fette und Wachsarten und über das Phänomen der Säureresistenz. Differentialdiagnose der Tuberkel- und Pseudotuberkelbazillen. Tuberkelbazillen-

granulationen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XCIX, 1909, H. 3, p. 317).

Verf. empfiehlt zur Unterscheidung der echten von den unechten Tuberkelbazillen folgendes Verfahren:

1) Färben der Präparate mit ZIEHLS Karbolfuchsin.

2) Waschen in Leitungswasser.

3) Etwa 2 Minuten in Karbolkristallviolett färben.

4) Behandlung mit Lugol, bis sich kein Metallspiegel mehr bildet; Behandlung mit Acetonalkohol (Aceton und Alkohol in gleichen Teilen).

5) Waschen in Leitungswasser.

6) Färben mit Methylenblaulösung.

Die Tuberkelbazillen erscheinen rot gefärbt und enthalten im Innern stark violett gefärbte, durch Zwischenräume getrennte Granulationen; die Pseudotuberkelbazillen erscheinen violett gefärbt und ohne roten Saum und weisen dichtere Granulationen auf. *Küster (Kiel).*

Gutzeit, E., Die Bakterien im Kreislauf des Stoffes in der Natur und im Haushalt des Menschen. [Aus Natur- u. Geisteswelt, 233. Bändch.] Leipzig (B. G. Teubner) 1909. Mit 13 Abbild. u. 138 pp.

Das Büchlein, das als populäre Einleitung in die Bakteriologie und insbesondere die technisch-bakteriologischen Fragen sehr empfohlen werden kann, behandelt im zweiten Kapitel die Methoden der Bakterienzüchtung. *Küster (Kiel).*

D. Botanisches.

Müller, G., Mikroskopisches und physiologisches Praktikum der Botanik für Lehrer. Zweiter Teil: Kryptogamen. Mit 168 vom Verf. entworfenen Figuren. Leipzig u. Berlin (B. G. Teubner) 1908. 165 pp. geb. 4 M.

Was über den ersten Teil des Werkchens seiner Zeit gesagt worden ist[1], kann bei Erscheinen des neuen, zweiten, ebenfalls gut redigierten Teiles wiederholt werden. Es werden von den Pterido-

[1]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXIV, 1907, p. 208.

phyten bis zu den Bakterien alle Gruppen der Kryptogamen nach ihrer Anatomie, nach Zellenform und Zelleninhalt besprochen und ihre Physiologie, insbesondere ihre Ernährungsphysiologie und die Methoden ihrer künstlichen Züchtung behandelt. *Küster* (*Kiel*).

Nestler, A., Ein einfaches Verfahren zum Nachweise der Benzoësäure in der Preißelbeere und Moosbeere (Ber. d. d. bot. Ges. Bd. XXVII, 1909, H. 2, p. 63).

Eine einzige Preißelbeere (Vaccinium vitis Idaea) genügt, um mit Hilfe des Nestlerschen Sublimierungsverfahrens den Gehalt der Frucht an Benzoësäure nachzuweisen. Eine getrocknete Beere wird zerkleinert, die Stückchen werden auf dem Boden eines Uhrschälchen (etwa 7 cm Durchmesser, 1 mm dick) zu einem Häufchen vereinigt; man bedeckt das Schälchen mit einer runden Glasplatte von etwa 10 cm Durchmesser und 1·5 mm Dicke und erhitzt mit einer ungefähr $^3/_4$ cm langen Mikroflamme, deren Spitze etwa 12 cm vom Drahtnetz unter dem Uhrschälchen entfernt ist. Auf der Glasplatte trägt man außen zur Kühlung etwas Wasser auf: genau über dem in der Uhrschale befindlichen Objekt eine größere Menge, einige kleine Tropfen im Kreise herum. Nach 7 bis 10 Minuten erhält man aus der Preißelbeere einen starken Beschlag: „Zahlreiche Aggregate mit öfters sehr langen, flachen, prismatischen Bildungen, die am Ende zerschlitzt sind, ferner Einzelkristalle, die sowohl nach ihrer Form wie nach den sonstigen Eigenschaften (in Natronlauge gelöst und durch Salzsäure abgeschieden) als Benzoësäure charakterisiert sind.“ Die durch Sublimation erhaltenen dünnen Beschläge von Benzoësäure verdunsten bei Zimmertemperatur in wenigen Stunden vollständig.

Auch die Moosbeere (Vaccinium Oxycoccus) enthält Benzoësäure, allerdings nicht so reichlich wie die Preißelbeere. In der Heidelbeere (V. Myrtillus) und der Rauschbeere (V. uliginosum) konnte keine Benzoësäure nachgewiesen werden. —

Die vom Verf. vorgeschlagene Methode ist auch zum Nachweis geringer Mengen Benzoësäure in Essig-Marmeladen oder Fett oder in Benzoëharz und Tolubalsam geeignet; bei Verarbeitung des letzteren schlägt sich außer Benzoësäure auch noch Zimtsäure nieder.

Küster (*Kiel*).

Zijlstra, K., Die Gestalt der Markstrahlen im sekundären Holz (Recueil Travaux botan. Néerlandais vol. V, 1908).

Verf. sägt aus Querscheiben alter Baumstämme, um den Verlauf der Markstrahlen zu erforschen, in radialer Richtung rechteckig prismatische Stücke heraus, derart, daß die kleinen Endflächen der Rinde bzw. dem Mark zugewandt sind, die Anzahl der Jahresringe in dem Prisma wird bestimmt, dann wird es mit der Säge in kleine, zu den Endflächen parallele Scheibchen zerlegt. Die der Rinde zugewandte Flächen werden durch Abhobeln und Abreiben mit Sandpapier geglättet; die Markstrahlen treten alsdann deutlich auf dunklem Hintergrund hervor. Auf der dem Kambium zugekehrten Endfläche wählte Verf. mehrere Markstrahlen aus, bezeichnete jeden mit einem Buchstaben und ebenso in den folgenden soliden Flächen die entsprechenden Markstrahlspuren. Liegen zahlreiche Markstrahlen dicht beieinander, so bringt die regelmäßige Form und gleiche Größe der Scheibchen Aushilfe, da man die Koordinaten des Ober- und Unterendes des Markstrahles in mehreren Scheibchen bestimmen kann. *Küster (Kiel).*

Stoklasa, J., u. **Ernest, Ad.**, Beiträge zur Lösung der Frage der chemischen Natur des Wurzelsekretes (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXXVI, 1908, H. 1, p. 55).

Die Nährlösung, in der die Verff. ihre Versuchspflanzen aufzogen (Hordeum, Zea) enthielt auf einen Liter destillierten Wassers:

Calciumnitrat	1	g
Kaliumchlorid	0·25	„
Magnesiumsulfat	0·25	„
Dikaliumphosphat	0·75	„
Ferrophosphat	0·10	„
Calciumsilikat	0·25	„

Küster (Kiel).

Benecke, W., Die von der Cronesche Nährsalzlösung (Zeitschr. f. Bot. Bd. I, 1909, No. 4, p. 235).

Kritische Nachprüfung der von v. d. Crone[1] veröffentlichten Angaben über die verschiedenen bisher üblichen Nährsalzlösungen und die von ihm selbst zusammengesetzte neue Mischung ergaben folgendes.

[1]) Dissertation Bonn, 1904.

In allen Nährlösungen, in welchen die Versuchsobjekte des genannten Autors zur Chlorose neigten, besteht eine verminderte Löslichkeit des Eisens im Vergleich zu solchen Lösungen, in welchen gesunde Pflanzen erzogen wurden; insonderheit bedingt Zufuhr löslicher Phosphate, auch des sauren Kaliumphosphates, zu Nährlösungen, welche Eisenphosphat als Eisensalz führen, eine verminderte Löslichkeit des Eisens. Die Annahme, daß Phosphate an sich eine von der Eisenzufuhr unabhängige Chlorose hervorrufen können, läßt sich nicht stützen. Ein Verzug der v. d. Croneschen Nährlösung besteht darin, daß in der neutralen Flüssigkeit, die Ferro- und Tertiärcalciumphosphat als einzige Fe- und P-quellen enthält, die Wurzeln vieler Pflanzen besser gedeihen als in angesäuerten Lösungen, vorausgesetzt, daß das der Pflanze zugängliche Eisen ihr genügt.

Wegen der physiologischen Ergebnisse der Arbeit muß auf das Original verwiesen werden. *Küster (Kiel).*

Vouk, Val., Laubfarbe und Chloroplastenbildung bei immergrünen Holzgewächsen (Sitzber. d. K. Akad. Wiss. Wien, mathem.-naturwiss. Kl., Bd. CXVII, Abt. 1, Dezember 1908, p. 1337).

Zum Untersuchen von Chlorophyllkörnern bediente sich Verf. der von Zimmermann vorgeschlagenen Methoden. Als Fixiermittel bewährte sich Sublimat-Pikrinsäure — wässerige gesättigte Lösungen von Sublimat und Pikrinsäure zu gleichen Teilen gemischt —, in welcher die Objekte 12 bis 24 Stunden oder noch länger verbleiben; dann Auswaschen mit Wasser, Alkohol steigender Konzentration bis zu 75 Prozent. Die Handschnitte werden nach Zimmermanns Verfahren mit „Säurefuchsin B" gefärbt; Jodgrünfärbung erwies sich als weniger brauchbar. Vor der Eintragung in die wässerige Säurefuchsinlösung wurden die Schnitte in Alkohol abnehmender Konzentration übertragen; in der Farblösung blieben sie 48 Stunden, oft noch länger; dann Auswaschen mit Wasser (2 bis 4 Minuten), Entwässern durch Phenol oder Alkohol steigender Konzentration, Nelkenöl, Kanadabalsam. *Küster (Kiel).*

Ruhland, W., Beiträge zur Kenntnis der Permeabilität der Plasmahaut (Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLVI, 1908, H. 1, p. 1—54).

Verf. prüfte die Permeabilität der Plasmahaut zahlreichen Farbstoffen und nichtgefärbten Verbindungen gegenüber; uns interessieren

hier besonders die durch die Untersuchungen mit Farbstoffen gewonnenen Resultate, welche zur Beurteilung der intravitalen Färbung wichtige neue Beiträge bringen.

Die von Overton aufgestellte These[1], nach welcher ein weitgehender Parallelismus zwischen der Schnelligkeit der Aufnahme organischer Farbstoffe und der Leichtigkeit, mit welcher diese durch Lösungen von Cholesterin usw. gelöst werden, bestehen soll, läßt sich nach Ansicht des Verf. nicht aufrecht erhalten: basische Farbstoffe werden unabhängig von dem Grad ihrer Lipoidlöslichkeit in die Zellen aufgenommen; das in Lipoiden sehr schwer lösliche Malachitgrün und Thionin werden mit großer Schnelligkeit, das sehr leicht lösliche Rhodamin wird ungemein langsam aufgenommen; mit großer Schnelligkeit wird Methylengrün, das absolut lipoidunlöslich ist, aufgenommen.

Die Säure-, speziell die Sulfosäurefarbstoffe werden im allgemeinen nicht aufgenommen; eine Beziehung zur Lipoidlöslichkeit ist auch hier nicht vorhanden: „so konnten mehrere sehr leicht fettlösliche Sulfosäureverbindungen (Wollviolett usw.) namhaft gemacht werden, welche absolut nicht eindringen, im Gegensatz zu andern, so gut wie unlöslichen oder völlig unlöslichen, welche regelmäßig oder doch in einzelnen Fällen aufgenommen werden. Interessant ist z. B., daß von Phthaleïnen n u r das Rhodamin, wenn auch sehr langsam aufgenommen wird, welches b a s i s c h e Eigenschaften hat, daß dagegen die übrigen Phthaleïne, die zum Teil leicht fettlöslich sind, die aber nur s a u r e n Charakter haben, n i c h t eindringen.“

Eine Erklärung für den Unterschied im Verhalten der basischen und der sauren Farbstoffe kann Verf. nicht geben.

Den Eintritt von Neutralsalzen in Spirogyrazellen weist Verf. folgendermaßen nach: überträgt man die Algenfaden aus einer sehr verdünnten Toluylenrotlösung, bevor es zum Ausfallen des Tannats kommt, nach gründlichem Abspülen in die verdünnte Lösung einer der im folgenden genannten Neutralsalze, so findet infolge der aussalzenden Wirkung in kürzester Frist das Ausfallen des Tannats statt, in 0·2- bis 0·5prozentigen Lösungen KNO_3 oder $NaNO_3$ schon nach Bruchteilen einer Minute; ähnlich wirken die entsprechenden Sulfate; die Chloride wirken etwas langsamer, besonders $CaCl_2$; auch $Ca(NO_3)_2$ wird offenbar langsamer als die Alkalinitrate aufgenommen. „Noch schöner als mit Toluylenrot kann man diese Reaktionen mit einem

[1]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. XVII, 1900, p. 334.

so außerordentlich schwer eindringenden Farbstoff wie Rhodamin erhalten. Dagegen ist z. B. Methylenblau nicht geeignet, weil hier der Salpeter den in den Wandungen gespeicherten Farbstoff verdrängt und dadurch möglicherweise auch dem Zellinnern weiteres freies Methylenblau zuführen könnte, was dann ebenfalls zur Ausfällung führen würde." *Küster* (*Kiel*).

Ruhland, W., Die Bedeutung der Kolloïdalnatur wässeriger Farbstofflösungen für ihr Eindringen in lebende Zellen (Ber. d. d. bot. Ges. Bd. XXVIa, 1908, H. 10, p. 772).

Die Lösungen zahlreicher organischer künstlicher Farbstoffe sind durch ihr Verhalten bei Pergamentdialyse wie durch ihre Elektrolytfällbarkeit als kolloïdal erkannt worden: die Sulfosäurefarbstoffe werden als negativ geladene Kolloïde durch ein-, zwei- und dreiwertige Rationen (H^+, Na^+, Ca^{++}, Ni^{++}, Cu^{++}, Fe^{+++}, Al^{+++}), einige positive basische Farbstoffe mit OH^- ausgeflockt[1]. Ein weiteres Hilfsmittel zur Erforschung der kolloïdalen Farbstofflösungen gibt das Ultramikroskop an die Hand: manche Farbstoffe liefern homogene Lösungen, andere kolloïdal-heterogene. Mit der Aufnahme der Farbstoffe in lebende Zellen hat der Grad der Kolloïdität nach Verf. nichts zu tun. Unter den basischen Farbstoffen werden gerade manche kolloïdale mit besonderer Geschwindigkeit aufgenommen, die mäßigkolloïdalen Toluylenrothydrochlorid, Dahlia und Nilblau, der starkkolloïdale Prune pure und die hochkolloïdale Toluylenrotbase dringen rasch in die Zelle ein. Von den Sulfosäurefarbstoffen dringt z. B. die hochkolloïdale Methylorangelösung in manche Zellen ein, während echtgelöste Farbstoffe wie Wollviolett, Erioglaucin u. a. nicht eindringen. *Küster* (*Kiel*).

Strigl, M., Der Thallus von Balanophora, anatomisch-physiologisch geschildert (Sitzungsber. d. K. Akad. Wiss. Wien, mathem.-naturw. Kl., Bd. CXVII, 1908, Abt. 1, p. 1127).

Die Handschnitte wurden durch Behandlung mit Äther vom Balanophorin befreit. *Küster* (*Kiel*).

---

[1]) Vgl. Teague, O., u. Buxton, B. H., Die Agglutination in physikalischer Hinsicht. IV. Die Ausflockung von Anilinfarben (Zeitschr. f. physik. Chemie Bd. LX, 1907, p. 469).

Nokazawa, R., Zwei Saccharomyceten aus Sakéhefe (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 2, Bd. XXII, 1909, No. 18/23, p. 529).

Verf. kultivierte Hefen auf folgenden Lösungen: 1) Ungehopfte Bierwürze von 12 Prozent B. 2) Neutrales Hefenwasser nach WILL[1] mit 5 Prozent Saccharose. 3) Peptonlösung, welche

0·5	g	$CaHPO_4$
4·55	„	KH_2PO_4
2·1	„	$MgSO_4$
20·0	„	Pepton WITTE

im Liter enthält. 4) Die gleiche Peptonlösung mit Zusatz von 5 Prozent Saccharose. 5) Nährlösung nach KOSSOWICZ[2] von folgender Zusammensetzung:

5	Prozent	Saccharose
0·4	„	KCl
0·4	„	$(NH_4)_2HPO_4$
0·4	„	$MgSO_4$
0·04	„	$CaHPO_4$.

Küster (Kiel).

Wehmer, C., Nachweis des Hausschwammes (Merulius) auf kulturellem Wege (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 2, Bd. XXII, 1909, No. 18/23, p. 652).

Aus dem Holz, das auf Merulius geprüft werden soll, läßt man im feuchten Raum Myzel hervorwuchern, von welchem Proben auf 2prozentigen Nähragar übertragen werden. Von einer einwandfreien reinen Kultur werden Überimpfungen auf 10prozentige Wurzelgelatine oder -agar und gekochte Kartoffeln gemacht (Reagenzglaskulturen) und dann bei 20° C der weiteren Entwicklung überlassen. Die auf pilzkrankem auftretenden Arten, die mit Merulius verwechselt werden könnten, unterscheiden sich von diesem durch ihr charakteristisches Verhalten auf den genannten Nährböden.

„Merulius zeichnet sich durch eine vielfach größere Wachstumsschnelligkeit unter den gewählten Bedingungen aus, die Kulturen sind durchweg schneeweiß (voluminöser, watteartiger Myzel) nach

[1]) WILL, H., Hefenwasser zur biologischen Analyse (Zeitschr. f. ges. Brauwesen Bd. XXIV, 1901, p. 289).

[2]) Vgl. Zeitschr. f. d. landwirtsch. Versuchswes. in Österreich 1903.

einigen Wochen zusammenfallend; Gelbfärbung fast nur bei Substrathyphen (Agar, Gelatine)."

„Coniophora: Myzel stets gelblich (creme- bis hell lehmfarben), nie schneeweiß, nicht watteartig, sondern locker anliegend. Pigmentbildung! (gelbbraun bis hellbraun)."

„Polyporus vaporarius: Kultur stets schneeweiß (wie Merulius), auch Substrathyphen auf Gelatine und Agar stets farblos! Wachstum weit träger, auch nach langer Zeit (Wochen, Monate) wenig ergiebig, selten über die ganze Oberfläche sich ausdehnend. Etwas besser in Erlenmeyer-Kolben auf Fließpapier, mit Zuckerlösung getränkt, fortkommend, hier auch kleine Fruchtkörper entstehend, stets alles schneeweiß (Coniophora bildet hier feine bräunliche Stränge)."

Besonders charakteristisch ist das Verhalten der Pilze auf Kartoffel: „Coniophora bedeckt die Stücke mit dichtem, hell cremefarbenen Überzug, Merulius umwächst sie rasch mit schneeigem, watteartigem Geflecht, Polyporus wächst ausnehmend kümmerlich in kleinen, weißen, sehr langsam sich ausdehnenden Rasen oder geht kaum an."

„Gelatine wird von allen dreien nach einiger Zeit verflüssigt, am trägsten wieder von Polyporus, hier ohne jede Verfärbung ins Gelbliche, etwas schneller von den beiden anderen (Gelbfärbung!), aber selbst der besser wachsende Merulius erweicht dieselbe erst allmählich, ist also in den ersten ein bis 2 Wochen gewöhnlich noch ohne Wirkung; die verflüssigte Masse ist schließlich hell- bis dunkler gelbbraun. Anscheinend treten die Enzyme erst aus toten Zellen aus."

Küster (*Kiel*).

Overton, J. B., On the organization of the Nuclei in the pollen mothercells of certain plants, with especial reference to the permanence of the chromosomes (Ann. of Bot. vol. XXIII, 1909, p. 19).

Bei Untersuchung der Pollenmutterzellen von Thalictrum purpurascens gaben Essigsäure-Alkohol und Essigsäure-Alkohol-Chloroform nach Carnoy die besten Resultate. Verf. erhielt von allen postsynaptischen Stadien gute Bilder. Flemmings Chrom-Osmium-Essigsäure war für Untersuchung der Prophasen geeignet, war aber wertlos für die Untersuchung postsynaptischer Stadien. Gute Resultate erhielt Verf. bei Fixierung der Antheren in Flemmingscher (stärkerer) Flüssigkeit nach Vorbehandlung nach Carnoy. Flemmings

Flüssigkeit in ihrer stärkeren Modifikation lieferte bei Untersuchung von Calycanthus floridus und Richardia africana gute Resultate. — Bei Untersuchung von Thalictrum wurde auch einprozentige Lösung von Platinchlorid benutzt.

Nach Beizung in 2prozentiger Lösung von Kaliumpermanganat wurden die Schnitte mit FLEMMINGS Dreifarbengemisch oder mit HEIDENHAINS Eisenhämatoxylin gefärbt. *Küster* (*Kiel*).

Beer, R., On Elaioplasts (Ann. of Bot. vol. XXIII, 1909, p. 63).

Mikrochemisches Verhalten der vom Verf. in den Haaren von Gaillardia gefundenen Elaioplasten. *Küster* (*Kiel*).

Brenchley, W. E., On the strength and development of the grain of wheat [Triticum vulgare] (Ann. of Bot. vol. LXXXIX, 1909, p. 117).

Gute Resultate erhielt Verf., wenn er die Schnitte 5 Stunden oder länger mit sehr verdünnter Hämatoxylinlösung (nach DELAFIELD) überfärbte, in Wasser wusch, mit sehr verdünnter Salzsäure überspülte (5 Tropfen Salzsäure auf 100 cc 70prozentigen Alkohol) und dann bis zur Blaufärbung in Leitungswasser stellte; hierauf Färbung mit Orange G, Entwässerung, Nelkenöl, Xylol, Kanadabalsam. — Auch Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN bewährte sich sehr gut. *Küster* (*Kiel*).

Senn, G., Die Gestalt- und Lageveränderunng der Pflanzenchromatophoren. Mit einer Beilage: Die Lichtbrechung der lebenden Pflanzenzelle. Leipzig (W. Engelmann) 1908. Mit 83 Textfiguren und 9 Tfln.; XV und 397 pp. 20 M.

Die Peristromialfortsätze, mit welchen sich nach der Auffassung des Verf. die Chlorophyllkörner in den Zellen vorwärtsbewegen, sind an lebendem Material oft schwer zu sehen. „In frischem Zustande haben die Chloroplasten bekanntlich eine meist abgerundete, jedenfalls scharf umgrenzte Gestalt; in fixierten und gefärbten Präparaten dagegen, und zwar gerade in den besten, die absolut nicht geschrumpft sind, erscheinen sie sternförmig ausgezackt. Ihre Zipfel gehen in mehr oder weniger deutlich sichtbare Stränge über.“ Verf. schlägt vor, Stücke von Laubblättern in siedendem Alkohol oder in alkoholischer Sublimatlösung zu fixieren und mit Säure-

fuchsin zu färben: Verf. behandelte die Mikrotomschnitte mit einer Lösung des Farbstoffs in 96prozentigem Alkohol, dem behufs rascherer Wirkung etwas Jodalkohol zugesetzt war; die sehr stark überfärbten Schnitte lassen sich durch eine gesättigte Lösung von Jod in 30prozentigem Alkohol sehr rasch so stark differenzieren, so daß nur noch die Chromatophoren und die Zellenkerne gefärbt bleiben. Die Pseudopodien der Chromatophoren treten alsdann aus dem umgebenden Protoplasma sehr deutlich hervor.

Mit dem Dreifarbengemisch erhielt Verf. nach Fixierung mit Flemmings Gemisch in den Blattstielen von Menyanthes trifoliata eine deutlich grauviolette Färbung der Chloroplasten und der von ihnen ausgehenden Plasmastränge; das übrige Protoplasma blieb farblos oder färbte sich schwach grau. „Aber auch mit dieser Methode konnte ich keinen deutlichen Farbenunterschied zwischen dem Stroma und dem dieses umschließenden Peristromium erzielen. Die einzige konstatierbare Differenz zwischen diesen beiden Organen bestand darin, daß die Färbung der zum Peristromium gehörenden Teile rascher (in etwa $2^1/_2$ Jahren) verblaßte als das Stroma.“

Jod färbt das Peristromium gelb, und zwar intensiver gelb als das umgebende Protoplasma und minder intensiv als das Stroma; das Peristromium der mit Jod behandelten Zelle kann daher nur dann vom Stroma scharf unterschieden werden, wenn letzterer noch sein Chlorophyll enthielt.

Der letzte Abschnitt des Buches enthält neben anderem Anweisungen zur optischen Untersuchung der Zellen. *Küster (Kiel).*

Knoll, Fr., Über netzartige Protoplasmadifferenzierungen und Chloroplastenbewegung (Sitzungsber. d. K. Akad. Wiss. Wien, math.-naturw. Kl., Bd. CXVII, 1908, Abt. 1, p. 1227).

Die von Senn — vergleiche das vorangehende Referat — geschilderte Sternform fixierter Chloroplaste, aus welcher Senn auf das Vorhandensein von Pseudopodien schließt, hält Verf. für Artefakte, die namentlich der Behandlung mit ungeeigneten Fixierungsmitteln (kochender Alkohol) ihre Entstehung verdanken. Verf. empfiehlt die von Lidforss[1] vorgeschlagene Methode — Einwirkung von Osmiumdämpfen und nachfolgende Behandlung mit Alkohol steigender Kon-

[1]) Über kinoplasmatische Verbindungsfäden zwischen Zellkern und Chromatophoren (Lunds Univ. Årsshrifter, N. F., Bd. IV, No. 1).

zentration: die Chloroplasten schrumpfen etwa um ein Viertel, ohne ihre ursprüngliche Form zu verlieren; Sternform tritt niemals auf; das Peristromium ist gut erkennbar. *Küster* (*Kiel*).

Němec, B., Zur Mikrochemie der Chromosomen (Ber. d. d. bot. Ges. Bd. XXVII, 1909, H. 1, p. 21).

Die Chromosome der vom Verf. untersuchten Pflanzen sind in heißem Wasser leicht löslich. Taucht man lebendige Wurzelspitzen von Vicia faba oder Allium Cepa in Wasser von 96 bis 99° C und läßt sie in diesem 5 Sekunden, so zeigt sich bei nachfolgender Untersuchung in Wasser (bzw. nach Fixierung in Alkohol oder Flemmingscher Lösung), daß die Chromosome stark gequollen oder aufgelöst sind, meist sind allerdings nur ihre peripheren Teile gelöst oder stark vakuolisiert; die zentralen sind zwar noch erhalten, färben sich aber mit den sog. Kernfarbstoffen sehr schwach. Ruhende Kerne werden nicht angegriffen, Spireme verhalten sich wie schon differenzierte Chromosome.

Läßt man das heiße Wasser 10 bis 30 Sekunden einwirken, so löst sich der ganze Inhalt der Chromosome restlos: „An Wurzelspitzen, die gleich nach Behandlung mit heißem Wasser in Wasser oder Glyzerin untersucht werden, findet man ihre hyalinen, strukturlosen, deutlichen Abdrücke, ähnlich denen, welche Oes[1] nach autolytischer Lösung der Chromosome gefunden hat. An fixierten Präparaten sind allerdings in diesen Abdrücken noch spärliche Körnchen oder Lamellen zu finden, die vielleicht erst bei der Fixierung entstehen."

Nach 3 bis 5 Minuten währender Heißwasserbehandlung erscheinen an nicht fixierten Objekten an Stelle der Chromosome vakuolenförmige Höhlungen in dem kernig-vakuoligen oder fast homogen koagulierten Cytoplasma. An fixierten Objekten erscheinen im Innern der Chromosomennegative spärliche kernige oder lamellenartige Strukturen; daneben findet man völlig homogene, leere Negative. Ruhende Kerne der meristematischen Zellen sind höchstens an der Peripherie vakuolig, die Kerne der Dauergewebe sind unverändert und färben sich kräftig.

Alkoholmaterial (Wurzeln) verhält sich ähnlich wie frisches Material; die Chromosomen bleiben löslich; jedoch muß man sie um so länger der Einwirkung des heißen Alkohols aussetzen, je länger sich das Material in Alkohol befand. Die Chromosome des Alkohol-

[1]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXV, 1908, p. 127.

materials quellen bei der Heißwasserbehandlung nicht so stark auf wie die des frischen Materials. Bei Allium Cepa (Wurzelspitzen) wurden nach einstündiger Behandlung mit 96prozentigem Alkohol und 30 bis 60 Sekunden währender Einwirkung von heißem Wasser (96 bis 99° C) die Chromosome ganz ausgehöhlt, während die ruhenden Kerne gar nicht angegriffen wurden.

Bei den Nukleïnkörpern der Zellenkerne von Cucurbita Pepo zeigte sich, daß sie in heißem Wasser unverändert bleiben, während die Chromosome ausgehöhlt und gelöst werden.

Verf. kommt zu dem Schluß, daß die Chromosome substantiell von dem Kernreticulum (wo keine Chromatinkörper vorhanden sind) ebenso wie von den Chromatinkörperchen verschieden sind. „Wenn sich der Kern zur Mitose vorbereitet, so beginnen in seinem Fadenwerk Substanzen aufzutreten, welche in heißem Wasser löslich sind. Offenbar erfährt die Substanz des Kernreticulums eine chemische Veränderung, welche schließlich zu seiner Verwandlung in ein in heißem Wasser lösliches Chromatin führt.“

„Zuweilen wird das sog. achromatische Kerngerüst (Linin-Karyoplastin) mit dem Cytoplastin d. h. mit der als Plastin bezeichneten im Magensaft nicht verdaubaren Grundsubstanz des Cytoplasmas identifiziert. Man kann sich leicht überzeugen, daß das unrichtig ist. Mit Alkohol-, noch besser aber mit Pikrineisessigschwefelsäure fixierte und mit Alkohol entfärbte Objekte sind zu diesem Nachweis am besten geeignet. An Objektträger aufgeklebte Schnitte kommen auf 24 Stunden in eine einprozentige wässerige Lösung von KOH. Das Cytoplasma erscheint dann gleich wie die Nukleolen ungelöst, ebenso die Fasern der Teilungsspindel, der sonstige Kerninhalt verschwindet aber vollständig. Auch die Chromosomen lösen sich ganz oder bis auf einen kleinen Rest auf.“

Küster (Kiel).

Gomont, M., Conseils aux voyageurs pour la préparation des algues (Journ. de Bot. t. XX, 1906, p. 18).

Einige Winke, betreffend die Präparation kleiner und großer Algen. Bei der Konservierung von Algen, die zu mikroskopischen Untersuchungen dienen sollen, vermeide man Formol; 90prozentiger Alkohol ist zu empfehlen, Cyanophyceen werden durch ihn allerdings sehr geschädigt.

Pikrinsäure gibt bei Konservierung grüner Süßwasseralgen

gute Resultate; man verwende sie in konzentrierten Lösungen. Dem Alkohol setzt man vorteilhafterweise etwas Glyzerin zu.

Küster (*Halle a. S.*).

E. Mineralogisch-Petrographisches. Physikalisches.

Wright, F. E., Measurement of Extinction Angles in the Thin Section (Americ. Journ. of Science vol. XXVI, 1908, p. 349—390).

Der Verf. gibt zunächst eine ausführliche Theorie für das Problem: Wann zeigt eine Kristallplatte im Polarisationsmikroskop Dunkelheit und wie ändert sich die Lichtintensität bei kleinen Abweichungen von dieser Lage der vollkommenen Auslöschung? Neu ist besonders hinsichtlich des zweiten Teils dieses Problems die Darstellung der Intensität des aus dem Analysator austretenden Lichtes mittels eines Diagramms, welches diese Intensität als Funktion des Winkels der Polarisatoren angibt (für Abweichungen bis zu 1° von der gekreuzten Stellung) sowie auch als Funktion von der Einstellung des Objekttisches am Mikroskop; letztere Abhängigkeit wird für Abweichungen bis zu 2° von der Auslöschungslage des Präparates graphisch dargestellt.

Aus den Kurven geht hervor, daß für alle Punkte zwischen 89° 4′ und 90° 56′ die Platte vollkommen dunkel unter dem Mikroskop erscheinen muß, daß aber für größere Abweichungen eine Aufhellung des Gesichtsfeldes nachweisbar sein muß.

Zur Feststellung dieser Aufhellung werden in dem nunmehr folgenden mehr praktischen Teil neue Hilfsmittel beschrieben und auch eigene Prüfungen der früheren Konstruktionen (sensitive Farbenplatte, Bravais' Stöberplatte, Wrights Kombinationskeil, Calderons Kalzitplatte, Traubes Glimmerplatte, Sommerfeldts Gips-Zwillingsplatte, Quarzzwillingsplatte, Binikolokular, Bertrand-Platte, Nakamuras Halbschattenplatte, Kobells und Brezinas-Kalzitplatten) mitgeteilt.

Die neuen Hilfspräparate des Verfassers teilen das Gesichtsfeld des für paralleles Licht eingestellten Mikroskops in vier Quadranten durch eine im Präparat befindliche Teilungslinie (Zwillingsgrenze einer natürlichen oder durch Kitten erzeugten künstlichen Zwillingsplatte),

während die andere auf der ersten senkrechten Teilungslinie durch Interferenz, ähnlich wie ein Streifen in einem Babinetkompensator zustande kommt. Z. B. entsteht ein solches Hilfspräparat, wenn man eine Gipszwillingsplatte keilförmig schleift (Keilschneide senkrecht zur Zwillingsgrenze) und aufkittet auf eine Kristallplatte, welche an einer Stelle den mittels des Keiles allein erzeugbaren Gangunterschied gerade kompensiert, so daß dort bei genau gekreuzten Nikols ein schwarzer Streifen quer zur Zwillingsgrenze verläuft, welcher in die Mitte des Gesichtsfeldes gebracht wird.

Daher vereinigt dieses Präparat das Prinzip der Halbschattenvorrichtungen mit demjenigen des Soleil-Kompensators und kann zu einer äußerst genauen Justierung des petrographischen Mikroskops benutzt werden, denn sowohl die Gleichheit der Helligkeit zu beiden Seiten der Zwillingsgrenze als auch die Form des Kompensationsstreifens ändert sich schon bei geringen Fehlern des Instruments. (Vgl. auch d. folgende Referat.) *E. Sommerfeldt (Tübingen).*

Wright, F. E., The Bi-Quartz Wedge Plate applied to Polarimeters and Sacharimeters (Amer. Journ. of Science vol. XXVI, 1908, w. 4 figg.).

Als Ersatz für die Kristallpräparate, welche bei polarimetrischen Beobachtungen zur Vergrößerung der Genauigkeit angebracht werden, empfiehlt der Verf. eine mit einem Quarz-Doppelkeil verkittete Platte. Beide Keile sind senkrecht zur optischen Achse geschnitten und von vollkommen gleichen Dimensionen, jedoch der eine aus Rechtsquarz, der andere aus Linksquarz; sie werden aneinander auf eine Kristallplatte von solcher Dicke gekittet, daß die (in diesem Fall zirkulare) Doppelbrechung (vgl. das vor. Ref.) für einen Streifen des einen Keils und für den in die Verlängerung desselben fallenden Streifen des zweiten Keils kompensiert wird. Vor und nach Einschaltung des auf sein Drehungsvermögen zu prüfenden Präparats müssen zu beiden Seiten der „künstlichen Zwillingsgrenze“ des Doppelkeils die Helligkeiten gleich groß sein, sowie auch die Kompensationsstreifen genau senkrecht auf dieser Grenze stehen und koinzidieren. Es werden die Vorteile, die dieses Präparat vor dem Lippichschen Halbschattennikol besitzt, genauer angegeben.

E. Sommerfeldt (Tübingen).

Neue Literatur.

1. Lehr- und Handbücher.

Böhm, D. H., Treatise on Histology with Additions by Dr. Huber. M. Fig. 2. Edition. Philadelphia 1907. 18 M.

Braun, M., u. **Lühe, M.**, Leitfaden zur Untersuchung der tierischen Parasiten der Menschen und der Haustiere für Studierende, Ärzte und Tierärzte. Würzburg (C. Kabitzsch) 1909. 186 pp. 100 Figuren im Text. 6 M.

Dahlgren, U., a. **Kepner, W. A.**, A Textbook of the Principles of animal Histology. M. Fig. London (Macmillan). 16 M.

Dannerth, F., Methods of textile Chemistry. New York (John Willy a. Sons) and London (Chapman a. Hall) 1908. VIII u. 164 pp.

Hahn, H., Handbuch für physikalische Schülerübungen. Mit 340 Textfigg. Berlin (Jul. Springer) 1909. 20 M.; geb. 22 M.

v. Kahldens Technik der histologischen Untersuchung pathologisch-anatomischer Präparate von Edg. Gierke. 8. umgearb. Aufl. Mit Technik der Untersuchung des Nervensystems von Spielmeyer. Jena (Fischer) 1909. XI, 220 pp. 8°. 4 M.

Korányi, A. v., u. **Richter, P. F.**, Physikalische Chemie und Medizin. Ein Handbuch unter Mitwirkung von Dr. J. Bence, Prof. Dr. Boruttau, Prof. Dr. F. Bottazzi, Dr. F. Frankenhäuser, Dr. R. Höber, Prof. Dr. A. v. Korányi, Prof. Dr. A. Loewy, Prof. Dr. L. Michaelis, Dr. Oker-Blom, Prof. Dr. P. F. Richter, Dr. M. Roloff, Prof. Dr. C. Spiro und Prof. Dr. H. Strauss herausgegeben. Bd. I. Mit 27 Abb. 575 pp. Leipzig (G. Thieme) 1907. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 125.) 16 M.; geb. 19 M.

Macfadyen, A., The Cell as the Unit of Life and other Lectures delivered at the Royal Institution, 1899—1902. London. 398 pp. 8°. 7·80 M.

Pardi, F., Compendio di istologia (dottrina della cellula e dei tessuti). 2 Tfln. u. 74 Figg. Pisa (Guidi-Buffarini) 1909. XII, 174 pp. 8°.

Pizon, A., Anatomie et Physiologie humaines. Suivies de l'étude des principaux groupes zoologiques. 3. édition, augmentée. 535 figg. Paris. 650 pp. 8°. 6·80 M.

Schmid, B., Biologisches Praktikum für höhere Schulen. Mit 75 Abbild. im Text u. 9 Tfln. Leipzig u. Berlin (B. G. Teubner) 1909. 71 pp. 2 M.; geb. 2·50 M.

Schneider, K. C., Histologisches Praktikum der Tiere für Studierende und Forscher. 434 Figg. Jena (G. Fischer). IX, 615 pp. 8°. 15 M.

Schurig, W., Biologische Experimente nebst einem Anhang: Mikroskopische Technik. Ein Hilfsbuch für den biologischen Unterricht, insbesondere für die Hand des Lehrers, Studierenden und Naturfreundes. Leipzig (Quelle u. Meyer) 1909. 180 pp. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 126.) 2·40 M.; geb. 2·80 M.

Steinhaus, J., Grundzüge der allgemeinen pathologischen Histologie. Mit über 150 Mikrophotogrammen auf 25 Tfln. Leipzig (Akadem. Verlagsgesellschaft) 1909. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 124.) 10 M.

Tourneux, P., Précis d'Embryologie humaine. 2. édition, augmentée. 248 figg. Paris. 600 pp. 7·50 M.

2. Mikroskop und mikroskopische Apparate.

a. Neue Mikroskope.

Stead, J. E., A workshop microscope (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 1, p. 20).

REICHERT's Demonstration microscope (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 1, p. 95; vgl. REICHERTS Katalog No. 36, 1908, p. 46).

WATSON's „Standard" Microscope (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 1, p. 95; vgl. WATSON a. SONS's Catalogue 1909, p. 54—55).

WATSON's „Club" Portable Microscope (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 1, p. 97; vgl. WATSON a. SONS's Catalogue 1909, p. 66).

b. Beleuchtungsapparate.

Stead, J. E., A simple method of illuminating opaque objects (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 1, p. 22).

c. Mikrometer.

(J. D.,) Microscopic measurements (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 1, p. 100; vgl. Engl. Mechanic vol. LXXXVIII, 1908, p. 356).

---

d. Objekttisch.

Walker, G., A new Device for Maintaining a uniform Temperature of a warm Stage for microscopic Work. 1 fig. (Anat. Record vol. II, no. 9.)

e. Verschiedenes.

Boeke, H. E., Vorrichtung für mikroskopische Beobachtungen bei tiefen Temperaturen (Zeitschr. f. Instrumentenkde. Bd. XXIX, 1909, H. 3, p. 72).

(**Böhler, H.**,) Ein einfacher Quadratnetzzeichner (Zeitschr. f. Instrumentenkde. Bd. XXIX, 1909, H. 1, p. 20; vgl. Zeitschr. f. Vermess. Bd. XXXVII, 1908, p. 587).

Reichel, C., Das Mikroskop als Hilfsmittel in der Werkstatt (Deutsche Mechan.-Zeitg. 1909, H. 1, p. 1).

Rohr, M. v., Beiträge zur Geschichte des optischen Glases (Zeitschr. f. Instrumentenkde. Bd. XXIX, 1909, p. 50).

Bifocal and multifocal lenses (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 1, p. 98; vgl. Engl. Mechanic vol. LXXXVIII, 1908, p. 367—368).

---

3. Mikrophotographie und Projektion.

Fuhrmann, F., Leitfaden der Mikrophotographie in der Mykologie. Mit 3 Tfln. u. 33 Abb. im Text. Jena (G. Fischer) 1909. 88 pp. 3 M.

Marktanner-Turneretscher, G., Wesentliche Fortschritte auf dem Gebiete der Mikrophotographie und Projektion (Jahrb. f. Photogr. u. Reproduktionstechnik f. d. Jahr 1908. Herausgegeb. von J. M. Eder).

4. Präparationsmethoden im allgemeinen.

Asher, L., Die Anwendung der physikalisch-chemischen Methoden in der Physiologie (TIGERSTEDTS Handbuch d. physiol. Methodik Bd. I, 1908, Abt. 2, p. 113—232 m. 42 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 119).

Bechhold, H., Ultrafiltration (Zeitschr. f. Chemie u. Industrie d. Kolloide Bd. III, 1908, H. 5, p. 226).

Bonney, V., Eine neue und sehr schnelle Dreifachfärbung (VIRCHOWS Arch. Bd. CXCIII, 1908, H. 3, p. 547—549; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 126).

Bonney, V., A new and rapid triple stain (Journ. of Pathol. and Bact. vol. XIII, 1908, p. 74; vgl. Bull. Inst. PASTEUR t. VI, 1908, p. 988).

(**Dakin, W. J.**,) Methods of Plankton Research (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 1, p. 104; vgl. Proceed. and Transact. Liverpool Biol. Soc. vol. XXII, 1908, p. 500—552).

Escomel, Un nouveau colorant pour l'histologie (Bull. et Mém. Soc. Anat. de Paris Année LXXXIII, no. 2, p. 201—204).

Fischer, O., Methodik der speziellen Bewegungslehre (TIGERSTEDTS Handbuch d. physiol. Methodik Bd. II, 1908, Abt. 3, p. 120—316 m. 39 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 123).

Frey, M. v., Allgemeine Muskelmechanik (TIGERSTEDTS Handbuch d. physiol. Methodik Bd. II, 1908, Abt. 3, p. 87—119 m. 19 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 123).

Garten, S., Elektrophysiologie (TIGERSTEDTS Handbuch d. physiol. Methodik Bd. II, 1908, Abt. 3, p. 317—488 m. 104 Figg. u. 3 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 124).

Géraudel, E., Méthode de coloration par le bleu polychrome (Bull. et Mém. Soc. Anat. de Paris Année LXXXIII, no. 2, p. 204—206).

Greenman, M. J., A new Thermo-regulator (Anat. Record vol. II, no. 6).

Hahn, H., Einige neue Hilfsapparate für makroskopisches Präparieren (Arch. f. Anat. u. Physiol. Jahrg. 1908, Anat. Abt., H. 5/6, p. 437—442 m. 3 Figg.).

Hornowski, Gleichzeitige differenzielle Färbungsmethode des Bindegewebes, der Muskelfasern und der elastischen Fasern (Przegl. lekarski No. 44, 1908; vgl. Ber. in Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. XXXIV, No. 49, 1908, p. 2135; diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 128).

(**Jöckel, B.**,) Apparatus for the Aeration of Aquaria (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 1, p. 109; vgl. Sitzber. d. Ges. Naturforsch. Freunde Berlin, 1906, p. 66).

Lunghetti, B., Su alcuni metodi di colorazione della cartilagine fibrosa e sulla loro applicazione pratica (Boll. d. Sc. med. Anno LXXIX, ser. 8, vol. VIII, fasc. 6, p. 301—302).

MacNeal, W. J., An improved Thermo-regulator (Anat. Record vol. II, no. 5).

(**Mayer, A. G.,**) Marine Expeditions (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 1, p. 103; vgl. Science vol. XXVII, 1908, p. 669—671).

Neumayer, L., Mikroskopische Technik (Ergeb. d. Anat. u. Entwicklungsgesch. Bd. XVII, 1907, ersch. 1909, p. 158—246).

Oelsner, L., Praktisches Gefäß zur völligen Entwässerung nicht gänzlich absoluten Alkohols (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. XXXIV, 1908, No. 47, p. 2034; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 128).

Oppenheimer, C., Methodologie der Enzymforschungen (Tigerstedts Handbuch d. physiol. Methodik Bd. II, 1908, Abt. 2, p. 54—98; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 121).

Paulet, L., Sur un nouveau perfectionnement apporté au microtome à main de Ranvier (Bull. Soc. Roy. Bot. Belgique vol. XLV, 1908, fasc. 2, p. 331—334, illustr.).

Pelet-Jolivet, L., u. **Wild, A.,** Untersuchungen über die Farbstoffe in Lösung (Zeitschr. f. Chemie u. Industrie der Kolloïde Bd. III, 1908, p. 174; vgl. Compt. Rend. Acad. Sc. Paris t. CXLVII, 1908, p. 683—685).

Pelet-Jolivet, L., u. **Andersen, N.,** Über Fixierung verschiedener Derivate desselben Farbstoffes und der Theorie der Färbung (Zeitschr. f. Chemie u. Industrie der Kolloïde Bd. III, 1908, H. 5, p. 206; vgl. auch Compt. Rend. Acad. Sc. Paris t. CXLVII, 1908, p. 808—810).

(**Pelet-Jolivet, L.,**) Die Beziehungen zwischen der Färbung und der Adsorption (Zeitschr. f. Chemie u. Industrie der Kolloïde Bd. III, 1908, H. 5, p. 242; vgl. Arch. Sc. phys. et nat. 1908).

Röthig, P., Technik [1904—1907] (Ergebn. d. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. d. Menschen u. d. Tiere Jahrg. XII, 1907, p. 642—733).

(**Thilo, O.,**) Aeration of Aquaria (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 1, p. 110; vgl. Sitzber. d. Ges. Naturforsch. Freunde Berlin 1906, p. 139).

(**Toni, G. B. de,**) Schweizer's Reagent (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 1, p. 111; vgl. Atti R. Istituto Veneto vol. LXV, 1905—1906, p. 593—596).

Fettstifte zum Schreiben auf Glas (Zeitschr. f. angew. Mikrosk. u. klin. Chemie Bd. XIV, 1909, H. 9. p. 246).

5. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

a. Niedere Tiere.

Awerinzew, S., Über ein parasitisches Infusor aus dem Darm von Ophelia limacina [Rathke] (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XC, 1908, p. 334—342 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 129).

Bethe, A., Wirbellose Tiere (TIGERSTEDTS Handbuch d. physiol. Methodik Bd. I, 1908, Abt. 2, p. 69—112 m. 7 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 119).

Döring, W., Über Bau und Entwicklung des weiblichen Geschlechtsapparates bei myopsiden Cephalopoden (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCI, 1908, p. 112—189 m. 59 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 131).

(Kazzeto,) Über die hygienische Bedeutung von Protozoën im Wasser und über das Verhalten von Filtern gegenüber Protozoën (Zeitschr. f. angew. Mikr. u. klin. Chemie Bd. XIV, 1909, H. 10, p. 269).

Montgomery, Th. H. jr., On the Maturation of Mitoses and Fertilization of the Egg of Theridium (Zool. Jahrb., Morph. Abt., Bd. XXV, 1907, p. 237—250 m. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 132).

Peter, K., Eine Methode zum Durchschneiden von Seeigeleiern (Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organ. Bd. XXVII, H. 1, p. 71—72).

Philiptschenko, J., Beiträge zur Kenntnis der Apterygoten. 2. Über die Kopfdrüsen der Thysanuren (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCI, 1908, p. 93—111 m. 2 Figg. u. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 132).

Pütter, A., Methoden zur Erforschung des Lebens der Protisten (TIGERSTEDTS Handbuch d. physiol. Methodik Bd. I, 1908, Abt. 2, p. 1—68 m. 48 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 118).

Stantschinsky, W., Über den Bau der Rückenaugen und die Histologie der Rückenregion der Oncidien (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XC, 1908, p. 137—180 m. 1 Fig. u. 3 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 131).

Tozer, E., On mounting rotifers and protista in canada balsam (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 1, p. 24).

Tschachotin, S., Die Statocyste der Heteropoden (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XC, 1908, p. 343—422 m. 15 Figg. u. 5 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 130).

---

b. Wirbeltiere.

Alagna, G., Über einige eigenartige Zellen in der Gaumentonsille eines Hundes und über ihre wahrscheinliche Bedeutung (VIRCHOWS Arch. Bd. CXCIV, 1908, H. 1, p. 46—51 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 135).

Belli, R., Il metodo WEIGERT per le fibre elastiche nella ricerca del glicogeno (Boll. d. Soc. med.-chir. di Modena Anno IX, 1907/1908, 3 pp.).

Bürker, K., Methoden zur Thermodynamik des Muskels (TIGERSTEDTS Handbuch d. physiol. Methodik Bd. II, 1908, Abt. 3, p. 1—86 m. 17 Figg. u. 8 Tfln; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 122).

Burger, H., Die Bedeutung der Röntgenstrahlen für Anatomie, Physiologie und Diagnostik auf dem Gebiete der Rhino-Laryngologie (Verh. 1. internat. Laryngo-Rhinol. Kongr. Wien 1908, p. 229—242).

Ciliano, P., Eleïdin (Monatsh. f. prakt. Dermatol. Bd. XLVI, 1908, p. 435—441; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 133).

Collin, R., Les variations de structure à l'état normal du noyau de la cellule nerveuse somatochrome chez le Cobaye (C. R. de l'Assoc. des Anat. 10. réunion, Marseille, 1908; vgl. Bibliogr. Anat. Suppl. 1908, p. 21—29 av. 5 figg.; diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 142).

Dantschakoff, W., Untersuchungen über die Entwicklung des Blutes und Bindegewebes bei den Vögeln. I. Die erste Entstehung der Blutzellen beim Hühnerembryo und der Dottersack als blutbildendes Organ (Anat. Hefte, H. 113 [Bd. XXXVII, H. 3], 1908, p. 473—589 m. 4 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 135).

Di Christina, G., Die sekretorischen Funktionen der Magendrüsen unter abnormen Bedingungen der Innervation und Kanalisation des Organs (VIRCHOWS Arch. Bd. CXCIV, 1908, H. 1, p. 32—46 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 140).

Duesberg, J., La spermatogénèse chez le rat [Mus decumanus PALL., variété albinos] (Inaug.-Diss. Leipzig [Wilhelm Engelmann] 1908, 102 pp. m. 2 Tfln.; vgl. Sep. aus Arch. f. Zellforschung Bd. I u. II; diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 144).

Gavazzeni, G. A., Trichohyalin (Monatsh. f. prakt. Dermatol. Bd. XLVII, 1908, p. 229—242; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 134).

Golgi, C., Di un metodo per la facile e pronta dimostrazione dell'apparato reticolare intorno delle cellule nervose (Boll. d. Soc. med.-chir. di Pavia, Anno XXII, no. 2, p. 81—87).

Golodetz, L., u. **Unna, P. G.**, Zur Chemie der Haut (Monatsh. f. prakt. Dermatol. Bd. XLVII, 1908, p. 1—17 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 133).

Knower, H. McE., A new and sensitive Method of Injecting the Vessels of small Embryos etc. under the Microscope (Anat. Record vol. II, no. 5 w. 9 figg.).

Kroh, F., Studien über den Bau der Synovialmembran und die Resorption des Gelenkinhaltes unter dem Einflusse variabler mechanischer Momente (Deutsche Zeitschr. f. Chirurgie Bd. XCIV, 1908, H. 3, 4, p. 215—240; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 139).

Johnston, J. B., A new Method of Brain Dissection (Anat. Record vol. II, no. 8).

Lundahl, G., Beitrag zur Kenntnis der sogenannten Grenzfibrillen der Epithelzellen (Anat. Hefte, H. 112 [Bd. XXXVII, H. 2], 1908, p. 201—215 m. 3 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 135).

Magnus, R., Die Bewegungen des Verdauungsrohres (TIGERSTEDTS Handbuch d. physiol. Methodik Bd. II, 1908, Abt. 2, p. 99—149 m. 3 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 121).

Minerbi, C., Un perfezionamento nella tecnica della colorazione coll'eosina-bleu di metilene in due tempi per l'emodiagnosi e la citodiagnosi cliniche (Gazz. d. Osped. ed Cliniche, Anno XXVIII, 1907, no. 72, p. 761—763).

Myers, V. C., A note on the technique of the Nissl Stain for Nerve Cells (Anat. Record vol. II, no. 9).

Nageotte, J., Technique rapide pour colorer les fibres à myéline des nerfs, de la moelle et du cerveau [Formol simple ou sulfaté, congélation, hématéine alunée] (C. R. Soc. Biol. Paris t. LXV, 1908, no. 31, p. 408—410; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 141).

Ogushi, K., Zur Herstellung von Demonstrationspräparaten des Amphibieneies (Anat. Anz. Bd. XXXIII, No. 15, p. 381—382; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 145).

Pawlow, J. P., Die operative Methodik des Studiums der Verdauungsdrüsen (Tigerstedts Handbuch d. physiol. Methodik Bd. II, 1908, Abt. 2, p. 150—188 m. 4 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 121).

Rebaudi, St., Nuovi metodi di ricerca istologica del sangue e cloronarcosi (Ann. Ostetr. e Ginecol. Anno XXX, vol. I, no. 5, p. 625—667).

Saigo, Y., Die Purkinjeschen Muskelfasern bei Erkrankung des Myokards (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XLIV, 1908, H. 2, p. 296—310 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 138).

Schenck, J., Atembewegungen (Tigerstedts Handbuch d. physiol. Methodik Bd. II, 1908, Abt. 2, p. 1—53 m. 29 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 120).

Schütz, Die Silberimprägnation der Neurofibrillen nach Bielschowsky (Neurol. Zentralbl. Jahrg. XXVII, 1908, No. 19, p. 909—911; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 143).

(**Smith, J. L.**,) Staining of fat with basic anilin dyes (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 1, p. 106; vgl. Journ. of Pathol. and Bact. vol. XII, 1907, p. 415—420).

(**Smith, J. L.**,) Simultaneous staining by Oxazine dyes (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 1, p. 107; vgl. Journ. of Pathol. and Bact. vol. XII, 1907, p. 1—4).

(**Smith, J. L., a. Mair, W.**,) Principles of Weigert's method (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 1, p. 107; vgl. Journ. of Pathol. and Bact. vol. XIII, 1908, p. 14—27).

---

c. Mikroorganismen.

Barber, M. A., On heredity in certain micro-organisms (Kansas University Sci. Bull. vol. IV, 1907, no. 50, p. 3).

Barber, M. A., The rate of multiplication of Bacillus coli at different temperatures (Journ. of infect. diseases vol. V, 1908, no. 4, p. 379; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 146).

Bruckner, J., Sur la fermentation des sucres par le méningocoque et le micrococcus catarrhalis (Compt. Rend. Soc. Biol. t. LXIV, 1908, p. 765; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 147).

Buard, G., Recherche de l'indol dans les cultures microbiennes (Compt. Rend. Soc. Biol. t. LXV, 1908, p. 158; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 148).

Cannata, S., Un nuovo apparecchio per la filtrazione rapida dell'agar (Arch. di Anat. patol. t. III, fasc. 1, 2, 1907; vgl. Bull. Inst. Pasteur t. VII, 1909, p. 153).

Cannata, S., La tecnica per la conservazione dei sedimenti urinari contenenti elementi organici (Rif. med. t. XXVI, 1908, no. 1; vgl. Bull. Inst. Pasteur t. VII, 1909, p. 154).

Cordier, M., Rajat, H., et Péju, G., Cultures achromogènes de micrococcus prodigiosus en présence de liquides à haute tension de vapeurs (Compt. Rend. Soc. Biol. t. LXV, 1908, p. 344—345; vgl. Bull. Inst. Pasteur t. VII, 1909, no. 2, p. 55).

Cordier, M., Rajat, H., et Péju, G., Influence de la lumière blanche diffuse et de ses diverses radiations sur la fonction chromogène du micrococcus prodigiosus (Compt. Rend. Soc. Biol. t. LXV, 1908, p. 376—377; vgl. Bull. Inst. Pasteur t. VII, 1909, no. 2, p. 55).

(**Doptes, C.**, a. **Koch, R.**,) Action of meningococcus and similar organisms on sugar media (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 1, p. 105; vgl. Compt. Rend. Soc. Biol. t. LXV, 1908, p. 351).

Escallon, J., et Sigre, A., Recherche de l'indol dans les cultures microbiennes à l'aide du furfurol (Compt. Rend. Soc. Biol. t. LXV, 1908, p. 507; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 148).

Fontes, A., Untersuchungen über die chemische Natur der den Tuberkelbazillen eigenen Fette und Wachsarten und über das Phänomen der Säureresistenz. Differentialdiagnose der Tuberkel- und Pseudotuberkelbazillen. Tuberkelbazillengranulationen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XCIX, 1909, H. 3, p. 317; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 149).

Grigoriew-Manoilow, O., Zur Frage der biochemischen Eigenschaften des Bacillus Osteomyelitidis (Biochem. Zeitschr. Bd. XI, 1908, p. 493—520).

Gutzeit, E., Die Bakterien im Kreislauf des Stoffes in der Natur und im Haushalt des Menschen. [Aus Natur- u. Geisteswelt, 233. Bändchen.] Leipzig (B. G. Teubner) 1909. Mit 13 Abbild. u. 138 pp. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 150.)

Harrison, F. C., a. **Van der Leck, J.**, Aesculin bile salt media for water analysis (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 2, Bd. XXII, 1909, No. 18/23, p. 547; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 149).

Harrison, F. C., a. **Van der Leck, J.**, Aesculin bile salt media for milk analysis (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 2, Bd. XXII, 1909, No. 18/23, p. 551; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 149).

(**Lafforgue**,) Blood cultures (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 1, p. 105; vgl. Compt. Rend. Soc. Biol. t. LXV, 1908, p. 340).

Levaditi et Roché, La syphilis. Expérimentation. Microbiologie. Diagnostic. Paris (Masson) 1908. 8°. VI et 396 pp. av. 59 figg. dans le texte et 2 planches hors texte en couleurs. Préface de E. Metchnikoff. (Vgl. Bull. Inst. Pasteur t. VII, 1909, p. 101.) 12 frcs.

Manicatide, Diagnostic bactériologique de la méningite tuberculeuse (Compt. Rend. Soc. Biol. t. LXV, 1908, p. 523; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 147).

Merlin, A. A. C. E., Note on a new growing cell for critical observations under the highest powers (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 1, p. 17).

Mesnil, F., et **Brimont, E.,** Sur un hématozoaire nouveau (Endotrypanum n. gen.) d'un édenté de Guyane (Compt. Rend. Soc. Biol. t. LXV, 1908, p. 581; vgl. Bull. Inst. Pasteur t. VII, 1909, p. 168).

Nuttall, G. H. F., The transmission of „Trypanosoma Lewisi" by fleas and lice (Parasitology vol. I, 1908, no. 4, p. 296).

Nuttall, G. H. F., a. **Graham-Smith, G. S.,** Notes on the drug treatment of canine piroplasmosis (Parasitology vol. I, 1908, no. 3, p. 220).

Nuttall, G. H. F., a. **Graham-Smith, G. S.,** The development of Piroplasma canis in culture (Parasitology vol. I, 1908, no. 3, p. 243—260; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1908, p. 146).

Pollaci, G., et **Lannata, S.,** La motilità e le ciglia del micrococco melitense (Gazz. d. Osped. e d. Clin. 1908, no. 145, 6 pp.; vgl. Bull. Inst. Pasteur t. VII, 1909, p. 237).

Ravant et **Ponselle,** Imprégnation du Spirochaete pallida dans les frottis sur lames au moyen de la largine [albuminate d'argent] (Compt. Rend. Soc. Biol. t. LXV, 1908, no. 32, p. 438; vgl. Bull. Inst. Pasteur t. VII, 1909, p. 154).

Sergent, Edm., et **Sergent, Et.,** Sur la structure fine des Sporozoites de Plasmodium relictum Grassi et Feletti [= Proteosoma] (Compt. Rend. Acad. Sc. Paris t. CXLVII, 1908, p. 439; vgl. Bull. Inst. Pasteur t. VII, 1909, p. 168).

Sigre, A., Au sujet du rouge neutre comme indice du Colibacille (Compt. Rend. Soc. Biol. t. LXVI, 1909, p. 153; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 148).

---

d. Botanisches.

Beer, R., On Elaioplasts (Ann. of Bot. vol. XXIII, 1909, p. 63; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 158).

Benecke, W., Die von der Crone sche Nährsalzlösung (Zeitschr. f. Bot. Bd. I, 1909, No. 4, p. 235; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 152).

Benecke, W., Über die Ursachen der Periodizität im Auftreten der Algen, auf Grund von Versuchen über die Bedingungen der Zygotenbildung bei Spirogyra communis (Internat. Revue d. ges. Hydrobiol. u. Hydrographie Bd. I, 1908, p. 533).

Brenchley, W. E., On the strength and development of the grain of wheat [Triticum vulgare] (Ann. of Bot. vol. LXXXIX, 1909, p. 117; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 158).

Falck, R., Über den gegenwärtigen Stand der Hausschwammforschung (Zeitschr. f. angew. Mikrosk. u. klin. Chemie Bd. XIV, 1909, H. 10, p. 253; vgl. Pharm. Zeitg. Bd. XI, 1908).

Gomont, M., Conseils aux voyageurs pour la préparation des algues (Journ. de Bot. t. XX, 1906, p. 18; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 161).

Knoll, Fr., Über netzartige Protoplasmadifferenzierungen und Chloroplastenbewegung (Sitzungsber. d. K. Akad. Wiss. Wien, mathem.-naturw. Kl., Bd. CXVII, 1908, Abt. 1, p. 1227; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 159).

Kühl, Über eine gesundheitsschädliche Aspergillusart (Neue Süddeutsche Apoth.-Zeitg. 1909, No. 5; vgl. Zeitschr. f. angew. Mikrosk. u. klin. Chemie Bd. XIV, 1908, H. 9, p. 243).

Modilewski, J., Zur Embryobildung von Euphorbia procera (Ber. d. d. botan. Ges. Bd. XXVII, 1909, H. 1, p. 21).

Müller, G., Mikroskopisches und physiologisches Praktikum der Botanik für Lehrer. 2. Teil. Leipzig (B. G. Teubner) 1908. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 150.)

Němec, B., Zur Mikrochemie der Chromosomen (Ber. d. d. botan. Ges. Bd. XXVII, 1909, H. 1, p. 21; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 160).

Nestler, A., Ein einfaches Verfahren zum Nachweise der Benzoësäure in der Preißelbeere und Moosbeere (Ber. d. d. botan. Ges. Bd. XXVII, 1909, H. 2, p. 63; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 151).

Nokazawa, R., Zwei Saccharomyceten aus Sakéhefe (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 2, Bd. XXII, 1909, No. 18/23, p. 529; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 156).

Overton, J. B., On the organization of the Nuclei in the pollen mother-cells of certain plants, with especial reference to the permanence of the chromosomes (Ann. of Bot. vol. XXIII, 1909, p. 19; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 157).

Polowzow, W., Untersuchungen über Reizerscheinungen bei den Pflanzen. Mit Berücksichtigung der Einwirkung von Gasen und der geotropischen Reizerscheinungen. Jena (G. Fischer) 1909. Mit 11 Abb. u. 12 Kurven im Text. 225 pp.

Ruhland, W., Beiträge zur Kenntnis der Permeabilität der Plasmahaut (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XLVI, 1908, H. 1, p. 1—54; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 153).

Ruhland, W., Die Bedeutung der Kolloïdalnatur wässeriger Farbstofflösungen für ihr Eindringen in lebende Zellen (Ber. d. d. botan. Ges. Bd. XXVIa, 1908, H. 10, p. 772; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 155).

Saito, K., Untersuchungen über die atmosphärischen Pilzkeime [2. Mitteilung] (Journ. of the College of Science, imp. Univ. Tokyo, vol. XXIII, Art. 15, 1908).

Scholl, E., Die Reindarstellung des Chitins aus Boletus edulis (Monatshefte f. Chemie Bd. XXIX, 1908, p. 1023—1036).

Senn, G., Die Gestalt- und Lageveränderung der Pflanzenchromatophoren. Mit einer Beilage: Die Lichtbrechung der lebenden Pflanzenzelle. Leipzig (W. Engelmann) 1908. Mit 83 Textfigg. u. 9 Tfln.; XV u. 397 pp. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 158.)

Stoklasa, J., u. **Ernest, Ad.**, Beiträge zur Lösung der Frage der chemischen Natur des Wurzelsekretes (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXXVI, 1908, H. 1, p. 55; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 152).

Strigl, M., Der Thallus von Balanophora, anatomisch-physiologisch geschildert (Sitzungsber. d. K. Akad. Wiss. Wien, mathem.-naturw. Kl., Bd. CXVII, 1908, Abt. 1, p. 1127; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 155).

(**Toni, G. B. de,**) Schweizer's Reagent (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 1, p. 111; vgl. Atti R. Istituto Veneto vol. LXV, 1905—1906, p. 593—596).

Vouk, Val., Laubfarbe und Chloroplastenbildung bei immergrünen Holzgewächsen (Sitzber. d. K. Akad. Wiss. Wien, mathem.-naturwiss. Kl., Bd. CXVII, Abt. 1, Dezbr. 1908, p. 1337; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 153).

Wehmer, C., Nachweis des Hausschwammes (Merulius) auf kulturellem Wege (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 2, Bd. XXII, 1909, No. 18/23, p. 652; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 156).

Westerdijk, J., Pure cultures of fungi (Botan. Gaz. Bd. XLVII, 1909, No. 3, p. 241).

Wilson, M., On spore formation and nuclear division in Mnium horminum (Ann. of Bot. vol. LXXXIX, 1909, p. 141).

Zijlstra, K., Kohlensäuretransport in Blättern (Proefschrift Groningen). 1909. 128 pp. 2 Tfln.

Zijlstra, K., Die Gestalt der Markstrahlen im sekundären Holz (Recueil Travaux botan. Néerlandais vol. V, 1908; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 151).

e. Mineralogisch-Petrographisches. — Physikalisches.

Ambronn, H., Über Umkristallisation und Gelbbildung beim Erhärten des Zements (Tonindustrie-Zeitg. Bd. XXXIII, 1909, No. 28).

Brendler, W., Mineralien-Sammlungen. Ein Hand- und Hilfsbuch für Anlage und Instandhaltung mineralogischer Sammlungen. I. Teil. Mit 314 Figg. im Text. Leipzig (W. Engelmann) 1908. geb. 7 M.

(**Broglie, de,**) Über die ultramikroskopische Prüfung der geladenen Teilchen in Suspension in den Gasen (Zeitschr. f. Chemie u. Industrie der Kolloïde Bd. III, 1908, H. 5, p. 231; vgl. Compt. Rend. Acad. Sc. Paris t. CXLVI, 1908, p. 1010—1011).

Justin-Müller, Ed., Adsorption (Färbung), Verkleben (Verfilzen) der Wollfaser und Quellungsaffinität (Zeitschr. f. Chemie u. Industrie der Kolloïde Bd. IV, 1909, H. 2, 3, p. 64).

Pauli, W., Kolloïdchemische Studien am Eiweiß (Zeitschr. f. Chemie u. Industrie der Kolloïde Bd. III, 1908, p. 2).

Weimann, P. P. v., Ultramikroskopische Untersuchungen kristallinischer Flüssigkeiten (Zeitschr. f. Chemie u. Industrie der Kolloïde Bd. IV, 1909, H. 2, 3, p. 59).

Wright, F. E., Measurement of Extinction Angles in the Thin Section (Americ. Journ. of Science vol. XXVI, 1908, p. 340—390; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 162).

Wright, F. E., The Bi-Quartz Wedge Plate applied to Polarimeters and Sacharimeters (Americ. Journ. of Science vol. XXVI, 1908, w. 4 figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 163).

Autorenregister.

Das vorliegende Heft (XXVI, 1) enthält Referate über die Arbeiten folgender Autoren:

Verlag von S. HIRZEL in LEIPZIG

TABELLEN

ZUM GEBRAUCH BEI

MIKROSKOPISCHEN ARBEITEN

VON

WILHELM BEHRENS

VIERTE VERBESSERTE AUFLAGE

HERAUSGEGEBEN VON

DR. ERNST KÜSTER
Professor für Botanik an der Universität Kiel.

Preis geheftet 7 Mark, gebunden 8 Mark

Druck von Fischer & Wittig in Leipzig.

ZEITSCHRIFT
FÜR
WISSENSCHAFTLICHE
MIKROSKOPIE
UND FÜR
MIKROSKOPISCHE TECHNIK

BEGRÜNDET VON W. J. BEHRENS

Unter besonderer Mitwirkung

von

Prof. Dr. P. Schiefferdecker, in Bonn **Prof. Dr. E. Sommerfeldt** in Tübingen

und

Prof. Dr. W. Gebhardt
in Halle a. S.

herausgegeben

von

Prof. Dr. ERNST KÜSTER
in Kiel

Band XXVI, Heft 2

Heft 102

Ausgegeben am 21. September 1909

Mit 33 Textabbildungen

LEIPZIG
Königstrasse 2
VERLAG VON S. HIRZEL
1909

*Alle Sendungen von Beiträgen für die Zeitschrift erbittet man an den Herausgeber, **Herrn Prof. Dr. Ernst Küster in Kiel** (Bartelsallee 7); die Sendungen von Drucksachen durch die Post an denselben oder auf Buchhändlerwege durch die Verlagsbuchhandlung S. Hirzel in Leipzig.*

Inhalt.

Nachdruck verboten. Übersetzungsrecht vorbehalten.

Etwaiger Nachdruck aus dieser Zeitschrift findet ohne Erlaubnis und ohne Wissen von Herausgeber und Verleger statt.

Band XXVI. Heft 2.

Über zweckmäßige Methoden für cytologische und histogenetische Untersuchungen am Wirbeltierembryo, mit spezieller Berücksichtigung der Celloïdinschnittserien.

Von

Prof. Dr. Alexander Maximow
in St. Petersburg.

LIBRARY
NEW YORK
BOTANICAL
GARDEN.

Während die Methodik für embryologische Untersuchungen, welche rein morphologische Zwecke verfolgen, heutzutage verhältnismäßig gut ausgearbeitet ist, kann man Ähnliches von den Untersuchungsmethoden, welche cytologischen und histogenetischen Studien am Embryo dienen sollen, keineswegs behaupten. Die Methoden, die sonst bei Anwendung auf die Gewebe des erwachsenen Organismus recht befriedigende Resultate ergeben, versagen oft bei den zarten embryonalen Geweben. Dies ist auch wohl die Hauptursache dessen, daß die Wissenschaft von der Histogenese der Gewebe und Organe beim Säugetierembryo im Gegensatz zu ihrer Morphogenese noch sehr schwach entwickelt erscheint.

Seit mehreren Jahren beschäftige ich mich mit histogenetischen Studien an Wirbeltierembryonen, hauptsächlich bei Säugetieren. In meinem Laboratorium ist dabei eine Reihe von einfachen und leicht zu handhabenden Untersuchungsmethoden ausgearbeitet worden, die wir jetzt mit bestem Erfolge anwenden. Sie genügen, wie ich glaube, in hohem Maße den nötigen Anforderungen. Man erhält eine sehr vollkommene Fixierung, sogar von Geweben, die sonst sehr schwierig

zu behandeln sind und leicht Artefakte geben und sehr elektive Färbungen, die die verschiedenen Gewebselemente sehr schön und deutlich hervortreten lassen. Außerdem gestatten sie lückenlose Schnittserien zu erlangen.

Es wird vielleicht nicht unnütz sein, wenn ich hier über diese Methoden berichte. Diese Veröffentlichung könnte vielleicht für Forscher, die histogenetische Untersuchungen an embryonalem Material unternehmen wollen, bei der Wahl der zweckmäßigsten Untersuchungsmethodik von Nutzen sein.

Die Methoden zerfallen in drei Teile: 1) Fixierung; 2) Einbetten, Schneiden und Aufkleben der Schnitte; 3) Färbung.

1. Fixierung.

Als Fixierungsmittel gebrauche ich seit einigen Jahren mit großem Erfolg das sogen. Zenker-Formol, welches bekanntlich seinerzeit von Helly (2) empfohlen worden ist. Es ist Zenkersche Flüssigkeit, zu welcher statt 5 cc Essigsäure auf 100 cc der Stammlösung 5 cc Formalin hinzugesetzt werden.

Diese Mischung ist meiner Meinung nach der ursprünglichen Zenkerschen Flüssigkeit in jeder Beziehung überlegen; sie dringt vielleicht nicht so tief ein, dafür sind aber die Fixierungsresultate viel vollkommener; besonders klar tritt der Unterschied an sehr leicht veränderlichen Gewebselementen hervor, z. B. an den roten Blutkörperchen, vor allem den embryonalen. Nach Fixierung mit gewöhnlicher, säurehaltiger Zenkerscher Flüssigkeit ist die normale äußere Form des Zelleibes der Erythrocyten meistens stark verändert; das hämoglobinhaltige Protoplasma erscheint stark gequollen, blasig und statt des intravitalen, vollkommen homogenen Aussehens enthält es grobe körnige oder netzige Gerinnsel. Die körnigen Einschlüsse verschiedener Zellen, die Granula der Leukocyten, besonders die leicht löslichen, z. B. die Mastzellengranula, die Sekretgranula der Drüsenzellen werden durch die gewöhnliche Zenkersche Flüssigkeit oft auch gelöst oder alteriert, während sie durch das Zenker-Formol meistens tadellos fixiert erscheinen.

Auch sonst steht das mikroskopische Aussehen verschiedener anderer Gewebselemente, z. B. der Epithelzellen, Neuroblasten usw. nach Fixierung mit Zenker-Formol dem Aussehen derselben Elemente in frischem, lebendem Zustand, eventuell bei intravitaler Färbung

mit Neutralrot u. dgl., unvergleichlich viel näher, als nach Fixierung mit säurehaltiger Zenkerscher Flüssigkeit.

In der letzten Zeit habe ich aber das Zenker-Formol in der Beziehung modifiziert, daß ich statt 5 Prozent Formol 10 Prozent nehme. Die Flüssigkeit dringt dabei noch rascher ein und die Fixierungsresultate sind noch vollkommener.

Als Stammlösung halte ich mir die gewöhnliche Zenkersche Mischung ohne Essigsäure und ohne Formalin vorrätig. Sie besteht aus:

1000 cc Aqua destillata,
50 g Sublimat (puriss.),
25 „ Kalium bichromicum purissimum,
10 „ Natrium sulfuricum purissimum.

Vor dem Gebrauch werden auf je 100 cc der auf 37° C erwärmten Stammlösung 10 cc Formalin hinzugesetzt und die vollständig frischen, lebenswarmen Objekte in diese ex tempore hergestellte Mischung gebracht. Amphibienlarven, überhaupt Gewebe poikilothermer Tiere, werden bei Zimmertemperatur fixiert.

Jedes Objekt muß dabei natürlich je nach seinen Eigenschaften in entsprechend angepaßter, zweckmäßiger Form fixiert werden, um einerseits die vollkommene Fixierung der einzelnen Zellen zu ermöglichen, anderseits die topographischen Verhältnisse der Gewebsteile in möglichst unverändertem Zustande zu bewahren. Dünne Keimscheiben, überhaupt dünne Membranen, die man als Flächenpräparate herstellen will und nicht zu schneiden beabsichtigt, werden zweckmäßigerweise in physiologischer Kochsalzlösung, wo sie herauspräpariert werden, auf der konvexen Oberfläche eines Uhrglases ausgebreitet und dann zunächst während ein paar Sekunden mittels Aufträufelns von Fixierungsflüssigkeit in ihrer ausgespannten, faltenlosen Lage zum Erstarren gebracht; dann werden sie in der Fixierungsflüssigkeit durch leises Schwenken des Glases von demselben befreit. Zur Fixierung kleiner zarter Embryonen eignen sich sehr gut die Steinachschen Siebdosen, wohin der unter Kochsalzlösung herauspräparierte Embryo auf einem Hornspatel oder in einem Hornlöffel gebracht wird. Embryonen von 1·5 cm und größere müssen, um eine ganz vollkommene Fixierung aller innerer Organe zu erhalten, aufgeschnitten werden. Man macht bei ihnen in der Bauchwand eine größere oder kleinere Öffnung oder man schneidet sogar noch den oberen Teil des Kopfes und von der einen Seite

den lateralen Teil des Halses und Rumpfes und die Extremitäten mittels einer feinen, spitzen Schere ab. Alles das variiert natürlich je nach dem speziellen Zwecke, den die Untersuchung verfolgt.

Zum Studium verschiedener weicher, locker gebauter und viele freie Zellen enthaltender Gewebe, z. B. der verschiedenen blutbildenden Organe, sind außer Schnittpräparaten noch Deckglaspräparate unerläßlich. Doch sind gewöhnliche Trockenpräparate für histogenetische Zwecke meist ganz unbrauchbar. Entweder muß das Gewebe vor dem Trocknen noch mit Osmiumdämpfen fixiert werden, wie es Weidenreich tut, oder es werden noch besser vom Gewebe an Deckgläsern feuchte Abstrich- oder Abklatschpräparate gemacht; die Gewebsschicht wird sofort, noch bevor sie anfängt auszutrocknen, in einer Fixierungsflüssigkeit fixiert; die Zellen bleiben dann am Glase fest kleben. Diese Methode ist von Jolly (4) und von mir (6, 7) bereits im Jahre 1902 angegeben worden. Neuerdings wird sie auch von Marchand (5) wieder gelobt.

Gerade zu diesen Deckglaspräparaten eignet sich das Zenker-Formol ganz vorzüglich. Man bringt das Deckglas mit der dünnen Gewebsschicht möglichst rasch in die Fixierungsflüssigkeit; das beste ist, wenn man das Deckgläschen mit der Gewebsschicht nach unten auf der Fixierungsflüssigkeit schwimmen läßt. In solchen Präparaten erscheinen die Zellen immer in ganz auffallend vollkommener Weise fixiert.

Die Fixierungsdauer beträgt verschiedene Zeit, je nach der Größe und Dicke des Objektes. Bei sehr jungen Säugetierkeimscheiben, bei Stückchen verschiedener Membranen, z. B. der Dottersackwand u. dgl., auch bei den feuchten Deckglaspräparaten genügen in der Regel 10 bis 15 Minuten. Kleine Embryonen bis zu 3 mm Länge bleiben eine Stunde, größere entsprechend länger in der Flüssigkeit. Auch für die größten Objekte darf aber der Zeitraum von 6 Stunden nicht überschritten werden, da sonst Niederschläge entstehen könnten; 5 Stunden genügen hier im allgemeinen vollständig. Wenn das Objekt bei einer Temperatur von 37° fixiert wird, so bleibt es bei dieser Temperatur nur während einer halben Stunde. Nach Ablauf dieser Frist wird das Gefäß vom Thermostat heruntergenommen und während der übrigen Fixierungszeit bleibt es also bei gewöhnlicher Zimmertemperatur stehen.

Nach der Fixierung werden die Objekte in Wasser ausgewaschen. Die größeren Embryonen oder Gewebsstücke werden in Mull eingewickelt und unter der Leitung 24 bis 48 Stunden lang gewässert.

Zarte, kleine Objekte müssen natürlich anders ausgewaschen werden. Hier bewähren sich gerade die Steinachschen Siebdosen sehr gut. Aus der Fixierungsflüssigkeit kommen die Dosen mit den Objekten in eine Reihe von großen Gefäßen mit destilliertem Wasser. Ich verwende meistens fünf Gefäße und in einem jeden verbleiben die Objekte ungefähr 5 Stunden. Die Deckglaspräparate werden in der Weise gewaschen, daß man sie auf destilliertem Wasser in großen Schalen schwimmen läßt.

Nach dem Auswaschen werden die Objekte, die kleineren auch weiter in Siebdosen, mit jodhaltigem Alkohol von steigender Konzentration behandelt, dann entwässert und nach der gewöhnlichen Methode in Celloïdin eingebettet.

In der letzten Zeit wende ich eine neue Modifikation des Zenker-Formols an, die in speziellen Fällen, wie es scheint, noch Besseres wird leisten können, als die gewöhnliche Mischung. Ich setze nämlich zu der oben angegebenen Zenker-Formollösung 2prozentige wässerige Osmiumsäurelösung hinzu. Die Flüssigkeit wird natürlich auch ex tempore bereitet, indem man auf 100 cc der warmen Stammlösung 10 cc käuflichen Formols und 10 cc einer 2prozentigen Osmiumsäurelösung hinzusetzt. Man fixiert ebenso wie mit der gewöhnlichen Lösung, nur bei Lichtabschluß. Die Flüssigkeit hält sich lange Zeit, mehrere Tage, augenscheinlich unverändert. Sie dringt unvergleichlich viel besser ein, als die anderen gewöhnlichen Osmiummischungen und gibt eine wirklich tadellose Fixierung bei tiefer und äußerst dauerhafter Schwärzung selbst der kleinsten Spuren von Fett, die sich der lösenden Wirkung der ätherischen Öle und des Xylols zäh widersetzt. Die Länge der Fixierungsdauer mit der Zenker-Formol-Osmiummischung kann man für bestimmte Zwecke auch vergrößern; man kann die Objekte 24 Stunden und sogar länger in der Flüssigkeit liegen lassen. Nach den Beobachtungen meines Kollegen, des Herrn Dr. W. Rubaschkin, gelingt es auf diese Weise unter gewissen Umständen bei Säugetierembryonen mittels der Eisenhämatoxylinfärbung die Chondriosomen in schönster Weise zur Darstellung zu bringen. Die Nachbehandlung der Präparate nach der beschriebenen Fixierung ist dieselbe, also Wasser, dann steigender jodhaltiger Alkohol und Einbettung in Paraffin oder Celloïdin.

2. Einbetten, Schneiden und Aufkleben der Serienschnitte.

Die Wahl der Einbettungsmethode ist gerade für histogenetische Untersuchungen am Embryo außerordentlich wichtig. Die Paraffin- und die Celloïdineinbettung geben nämlich ganz verschiedene Resultate. Auf Grund meiner Erfahrungen muß ich es als eine bestimmt formulierte Behauptung aufstellen, daß die Paraffineinbettung für histogenetische und cytologische Untersuchungen am Embryo, besonders am Säugetierembryo, ganz unpassend ist und nur die Celloïdineinbettung brauchbare Resultate liefert, und zwar sicherlich nach den meisten Fixierungen. Dieser Schluß ist rein empirischer Natur — um ihn theoretisch zu begründen, müßte man natürlich genaue Messungen der Zellen und der anderen Gewebsbestandteile vor und nach Paraffin oder Celloïdin vornehmen, die beiden Einbettungen in allen ihren Stadien und an jedem einzelnen Objekt in verschiedenen Modifikationen in systematischer Weise parallel durchprobieren usw., um die wirklichen Ursachen der eintretenden Alterationen aufzuklären. Das alles habe ich nicht gemacht, ich glaube aber doch, daß die obige Entscheidung auch ohnehin zweifellos das Richtige trifft.

Wenn man nach derselben Fixierung, überhaupt nach genau identischer Vorbehandlung die gleichen Objekte das eine Mal nach Paraffin-, das andere Mal nach Celloïdineinbettung, bei ebenfalls gleicher Färbung unter starker Vergrößerung betrachtet, so bemerkt man sofort einen scharfen Unterschied zwischen den Paraffin- und Celloïdinpräparaten. In den ersteren erscheinen die Zellen sämtlich mehr oder weniger geschrumpft, die Interzellularräume sind breiter, die Zellsubstanz selbst hat meistens auch eine andere, gröber gekörnte oder gröber netzige Struktur; die weiter unten beschriebenen Färbungen gelingen hier lange nicht so gut, sie erscheinen mehr diffus und es ist infolgedessen sehr oft nicht möglich, verschiedene Zellarten voneinander mit genügender Sicherheit zu unterscheiden, z. B. Lymphocyten von primitiven Blutzellen und von noch hämoglobinarmen Erythroblasten (8). Besonders leidet gerade das Hämoglobin und seine Färbung. Alle diese Nachteile der Paraffinpräparate wird man allerdings meist nur dann gewahr, wenn man sie mit Celloïdinpräparaten vergleicht. Hier sehen nämlich alle Gewebselemente sowohl ihrer äußeren Form als auch ihrer inneren Struktur nach genau so aus, wie unmittelbar nach der Fixierung und Wässerung — die Celloïdineinbettung selbst ruft also in dem einmal

fixierten Gewebe keine Veränderungen mehr hervor. Es versteht sich von selbst, daß dies Aussehen dem intravitalen jedenfalls auch mehr entspricht, als das Aussehen der Paraffinpräparate, die sich nach der Fixierung noch weiter verändert haben. Ich muß speziell noch hervorheben, daß ich mich bei dem Vergleich der beiden Einbettungen nicht nur auf eine einzige bestimmte Methode der Paraffindurchtränkung beschränkte, sondern als Übergangsmedien sowohl Xylol, Benzol und Chloroform als auch verschiedene ätherische Öle und auch den von M. Heidenhain vorgeschlagenen Schwefelkohlenstoff durchprobierte. Das Resultat war immer dasselbe.

Die mit dem osmiumhaltigen Zenker-Formol fixierten Präparate scheinen die Paraffineinbettung im allgemeinen besser zu vertragen als die mit gewöhnlichem Zenker-Formol behandelten. Ein Unterschied in ungünstigem Sinne im Vergleich mit Celloïdinpräparaten ist aber auch hier ohne weiteres klar.

Der Anwendung der Celloïdineinbettung bei embryologischen Untersuchungen stand bis jetzt immer die Unmöglichkeit im Wege, gute dünne Schnittserien rasch und sicher herzustellen. Es gab gewiß schon seit langem mehrere Verfahren zum Aufkleben von Celloïdinschnitten, sie waren aber alle nur für große dicke Schnitte, wie es etwa Schnitte vom Zentralnervensystem zu sein pflegen, brauchbar und bei allen blieb auch das Celloïdin ungelöst, was die meisten Färbungen unmöglich machte. Dasselbe ist auch von der erst vor kurzem von Suzuki (12) vorgeschlagenen, sicherlich sehr umständlichen und zeitraubenden Methode zur Herstellung von Celloïdinserien zu sagen, die darin besteht, daß man am Celloïdinrande eines jeden einzelnen Schnittes eine kleine Ziffer mittels Tusche anbringt. Die Schnitte bleiben frei, müssen einzeln behandelt werden und das Celloïdin bleibt auch ungelöst.

Vor 2 Jahren ist nun von Rubaschkin (10) eine Methode zum Aufkleben von Celloïdinschnitten veröffentlicht worden, die meiner Meinung nach das Problem zum größten Teile gelöst hat und die jetzt in meinem Laboratorium stets mit dem besten Erfolg gebraucht wird. Sie ist sehr einfach zu handhaben — ist dabei, vielleicht nur abgesehen von Osmiumpräparaten, ebenso sicher, wie die besten Methoden des Aufklebens von Paraffinschnitten und dürfte bei einiger Übung auch kaum mehr Zeit in Anspruch nehmen, als diese letzteren. Sie erlaubt es, lückenlose Serien von dünnen und beliebig kleinen oder beliebig großen Schnitten herzustellen und da das Celloïdin nachträglich gelöst wird, können auch alle möglichen Färbungen

angewandt werden. Die Methode ist nachträglich von Dantschakoff (1) etwas modifiziert und vervollkommnet worden.

Leider scheint mir die Rubaschkinsche Methode, soweit ich sehen kann, in anderen Laboratorien noch sehr wenig oder gar nicht in Gebrauch zu sein. Ich will es mir daher an dieser Stelle gestatten, sie wieder ausführlicher zu beschreiben, in der Modifikation, wie sie jetzt, zum größten Teil nach Dantschakoffs Angaben, von mir stets mit bestem Erfolg gebraucht wird.

Die in Celloïdin eingebetteten Objekte werden feucht in 65prozentigem Alkohol geschnitten. Wenn die Einbettung, namentlich das Entwässern und das schließliche langsame Austrocknen, sorgfältig durchgeführt worden sind, so gelingt es ohne jede Mühe, Schnitte von 5 μ zu bekommen. Säugetierembryonen schnitt ich meistens 7 μ dick. Anderseits gelingt es bei kleinen Objekten auch bis auf 3 μ herunterzugehen, obwohl dies nur selten wirklich notwendig oder sogar nützlich sein kann. Zum Gelingen des Schneidens ist selbstverständlich ein vollkommenes Mikrotom mit tadellos geschliffenem Messer unerläßliche Vorbedingung. Ich gebrauche stets nur Jungsche Mikrotome, meistens Modell II.

Links am Mikrotom auf dem Arbeitstisch ist auf einer Höhe von etwa 20 cm eine schwarze Holz- oder Hartgummiplatte angebracht, auf der mehrere Objektträger Platz finden. Auf der Messerklinge wird jeder Schnitt sofort aufgerollt und geglättet, was ein paar Sekunden erfordert und von hier wird er mit Hilfe von Nadel und Spatel auf den bereitstehenden Objektträger gebracht.

Der Objektträger wird vorher mit einer dünnen Schicht Eiweißglyzerin beschickt (Eiweiß durch ein dichtes Leintuch gepreßt 2 Teile, Glyzerin pur. 1 Teil). Dies erreicht man am besten einfach auf solche Weise, daß ein kleiner, mittels eines Glasstabes aufgetragener Tropfen mit der Fingerbeere ausgebreitet und fast ganz abgestrichen wird, bis eine kaum sichtbare, gleichmäßig dünne Schicht übrig bleibt.

Die Schnitte kommen also direkt vom Messer auf die Eiweißschicht. Sie werden hierher der eine nach dem anderen in der gewünschten Reihenfolge und Ordnung gelegt, bis die ganze Deckglasfläche, die bei mir bei kleinen Embryonen und großen Deckgläsern (24 $\times$ 40 mm) manchmal 80 und sogar mehr Schnitte faßt, ausgefüllt ist. Wenn die ersten Schnitte inzwischen, besonders bei einer großen Schnittzahl, einzutrocknen anfangen, muß man sie vorsichtig mit der Spitze eines in 65prozentigen Alkohol getauchten Pinsels betupfen; zuviel Alkohol kann die Schnitte wegschwemmen.

Wenn die gewünschte Anzahl Schnitte auf dem Objektträger erreicht ist, unterbricht man das Schneiden und schützt den Block vor dem Eintrocknen durch Auflegen eines mit 65prozentigem Alkohol reichlich durchtränkten Wattebäuschchens. Man nimmt den Objektträger von der Platte herunter, ordnet eventuell noch die Schnitte endgültig mit der Nadel und preßt sie dann mit mehrfach zusammengefaltetem, bestem schwedischem Fließpapier fest an den Objektträger an. Dadurch werden die Schnitte, wenn das Schneiden glatt vor sich ging, tadellos und ohne Falten ausgebreitet und fast der ganze Alkohol wird entfernt. Man darf die Schnitte aber keineswegs austrocknen lassen — den Beginn des Austrocknens bemerkt man an dem Weißwerden derselben.

Nach dem Anpressen werden sie sofort mit reinem englischem Nelkenöl übergossen — statt der von Rubaschkin empfohlenen Anilin-Nelkenölmischung, die meistens unschöne Runzeln oder Falten verursacht — und der Objektträger wird wieder auf die Platte gelegt, zur Seite geschoben und das Schneiden beginnt von neuem.

Nach 5 bis 10 Minuten erscheinen die mit Nelkenöl bedeckten Schnitte ganz aufgehellt. Bis dies geschieht, werden meist zwei oder drei neue Objektträger mit Schnitten beschickt und mit Nelkenöl übergossen, und wenn dann das erste Glas zur weiteren Verarbeitung kommt, wird der Platz für ein neues Glas frei. Die Arbeit wickelt sich mit vollkommener periodischer Regelmäßigkeit ab, ohne daß eine einzige Minute unnütz verloren gehen würde.

Das Nelkenöl wird von den aufgehellten Schnitten abgegossen, die Ränder des Glases mit einem Stück Fließpapier oder mit einem Tuche abgewischt und der Objektträger kommt dann in eine Hellendahlsche Küvette mit absolutem oder 96prozentigem, jedenfalls aber nicht schwächerem Alkohol. Das nochmalige Anpressen der Schnitte mit Fließpapier nach dem Nelkenöl, wie es Dantschakoff empfohlen hat, habe ich wieder gelassen, da dabei mitunter infolge der Weichheit des gequollenen Celloïdins Gewebsstücke abgerissen werden.

Nach 5 bis 10 Minuten kommt das Glas mit den Schnitten in eine zweite, dann in eine dritte Küvette mit absolutem Alkohol. Das Celloïdin erscheint jetzt meistens schon vollständig gelöst, da es aber manchmal an den Schnitten doch noch in Form von gequollenen Klümpchen haften bleibt, ist es stets zu empfehlen, die Objektträger aus der dritten Alkoholküvette noch in einen kleinen Glaszylinder mit absolutem Alkohol und mit geglühtem Kupfersulfat am Boden

für ein paar Minuten zu legen und dann in einen Zylinder mit einer Mischung von Alkohol absolutus und Äther zu gleichen Teilen zu übertragen. Hier wird das Celloïdin in ein paar weiteren Minuten stets vollständig gelöst und aus dem Alkoholäther kommen die Gläser, wenn es sich um Präparate handelt, die mit Sublimatgemischen fixiert wurden, in eine Hellendahlsche Küvette mit 75prozentigem, schwach jodhaltigem, hellgelbem Alkohol für 10 bis 20 Minuten. Um das Jod seinerseits zu entfernen, werden sie dann in eine Küvette mit reinem 75prozentigem Alkohol gebracht und hier können die Objektträger bis zur Färbung beliebig lange aufbewahrt werden. Vor der Färbung werden sie natürlich meistens für mehrere Stunden in Wasser übertragen, wenn es sich nicht um Färbung mit alkoholischen Lösungen handelt.

Während aller dieser Manipulationen bleiben die Schnitte stets tadellos am Glase haften; nur nach Fixierung mit Zenker-Formol-Osmium kann es, wie erwähnt, mitunter vorkommen, daß die Ränder einzelner Schnitte etwas abgehoben werden. Bei genügender Vorsicht bietet aber auch dies keine Gefahr, und vollständigen Verlust, aber auch dann nur von einzelnen Schnitten, hatte ich sehr selten zu beklagen.

3. Färbung.

Die mit Zenker-Formol oder Zenker-Formol-Osmium fixierten und in der oben beschriebenen Weise in Serienschnitte zerlegten Präparate können nach beliebiger Methode gefärbt werden. Unter anderem gibt auch die Eisenhämatoxylinfärbung mitunter sehr schöne Resultate. Die Zentrosomen treten dabei überall scharf hervor, im Epithel der Urnierenkanälchen sieht man sehr deutlich die Zentralgeißeln usw. Daß diese Färbung bei Zenker-Formol-Osmium-Fixierung nach Rubaschkin mitunter auch die Chondriosomen zur Darstellung bringen kann, habe ich bereits oben notiert.

Meine Untersuchungen bezogen sich bis jetzt zum größten Teil auf die Erforschung der embryonalen Histogenese des Blutes und des Bindegewebes (7, 8). Für mich galt es also in erster Linie, solche Färbungsmethoden ausfindig zu machen, die die verschiedenen Blutzellen elektiv färben und vor allem das Hämoglobin, auch in den kleinsten Spuren, deutlich hervortreten lassen würden.

Von allen durchprobierten Methoden erwiesen sich zwei Färbungen als den genannten Forderungen in hohem Grade genügend.

Die erste ist die Eosin-Azurfärbung, wie sie in verschiedenen Modifikationen in der Hämatologie und Pathologie zur Darstellung der Blutzellen und speziell auch der Malariaparasiten, besonders an Deckglaspräparaten gebraucht wird. Die zweite ist die Eosin-Orange-Toluidinblaufärbung von Dominici.

Für die erste Methode, die ich in der von Helly (3) für Schnitte vorgeschlagenen Nochtschen (9) Modifikation gebrauche, halte ich mir zwei Stammlösungen vorrätig, die indessen nicht zu alt sein dürfen — eine wässerige Lösung von Eosin w. G. (Grübler) 1 : 1000 und eine wässerige Lösung von Azur II (Grübler) 1 : 1000. Zur Färbung werden 10 cc Eosin mit 100 cc Wasser verdünnt; 10 cc Azur werden dann hinzugegossen, das Ganze wird mit einem Glasstab gut umgerührt und in diese Lösung kommen sofort die Objektträger mit den Schnitten. Die Färbungsdauer beträgt 12 bis 24 Stunden. Die zur Erlangung einer genügend intensiven Färbung nötige Zeit wechselt aber je nach dem Objekt. Mitunter erhält man auch schon nach 6 Stunden eine sehr gute Färbung.

Wenn man eine besonders intensive Färbung wünscht, so kann man statt 100 cc Wasser bloß 80 cc nehmen.

Endlich kann man mit fast identischem Resultat auch die bei Grübler käufliche Giemsa-Lösung verwenden. Die Farblösung bereitet man dann ex tempore durch Hinzusetzen von zwei Tropfen der käuflichen Stammlösung auf je 1 cc Wasser.

Die aus der Farblösung herausgenommenen Präparate werden mit 96prozentigem Alkohol differenziert, bis keine blauen Farbstoffwolken mehr abgehen, was nach einer bis 2 Minuten in der Regel erreicht ist, kommen dann für eine halbe Minute in absoluten Alkohol, dann in drei Portionen reinsten Xylols. Schließlich werden sie in neutralem, in Xylol gelöstem Kanadabalsam eingeschlossen. Die gleiche Behandlung erfahren auch die Deckglaspräparate, nur muß hier die Dauer der einzelnen Prozeduren abgekürzt werden.

Die beschriebene Färbung gibt sehr polychrome Präparate, die zum Studium der histogenetischen Wechselbeziehungen der verschiedenen Zellarten, und zwar nicht nur im Blut und Bindegewebe, sondern auch in den anderen Geweben sehr geeignet erscheinen. Das Protoplasma ist bläulich in verschiedenen Abstufungen, das Basichromatin dunkelblau, das Oxychromatin rosa, die Nukleolen schmutzigrötlichviolett; das Hämoglobin erscheint in reinem Zustande leuchtend rosenrot gefärbt, die azidophilen und pseudoeosinophilen Granula, die Sekretgranula im Pankreas und anderen Drüsen sind grellrot. Die

Achsenzylinder der jungen Nervenfasern haben ebenfalls eine sehr schöne rosenrote Färbung. Manchmal, besonders in den großen Lymphocyten, färben sich endlich auch die Zentrosomen deutlich rot.

Bekanntlich hat SCHRIDDE (11), der die Eosin-Azurfärbung (mit der GIEMSAschen Lösung) ebenfalls gebraucht, vorgeschlagen, die Präparate nicht mit Alkohol zu differenzieren, sondern direkt aus der Farblösung nach flüchtiger Abspülung mit Wasser in reines Aceton und von dort in Xylol zu bringen. Nur bei Acetonanwendung soll nach ihm die elektive Färbung der Blutelemente erhalten bleiben. Ich habe die SCHRIDDEsche Modifikation nachgeprüft und habe gefunden, daß das Aceton, da es in der Tat fast gar keinen Farbstoff extrahiert, bei schwer färbbaren Objekten, z. B. bei Schnitten dekalzinierter Knochen usw., manchmal vorteilhaft ist. In der Regel hat aber die Acetonbehandlung direkt eine ungünstige Wirkung, da infolge des Ausfallens des Extraktionsprozesses das Gewebe, selbst nach kurzer, $^1/_2$- bis einstündiger Färbungsdauer, mehr diffus und gleichmäßig gefärbt erscheint. Nach längerer Färbung, nach 6 Stunden, ist die Anwendung des Acetons überhaupt unmöglich, weil die Präparate dann einen ganz undurchsichtigen, schmutzigblauen Ton erhalten.

In manchen Fällen, z. B. bei jungen Amphibienlarven oder Selachierembryonen ist die oben geschilderte ursprüngliche Zusammensetzung der NOCHTschen Eosin-Azurmischung ungünstig, weil die Schnitte vom Eosin fast gar nichts behalten und selbst das Hämoglobin grünlichblau erscheint. In diesem Fall ist es zweckmäßig, Eosin und Azur in einem anderen Verhältnis zu mischen: man nimmt 16 cc Eosin, 80 cc Wasser und nur 8 cc Azur. Die übrige Behandlung bleibt dieselbe.

In der Eosin-Azurlösung nach NOCHT bilden sich während der Färbung, wie auch in den anderen ähnlichen Lösungen, Niederschläge. Sie bleiben jedoch an den Schnitten nicht haften; selbstverständlich müssen die Objektträger in der Lösung aufrecht stehen. Wenn man feuchte Deckglaspräparate färbt, so muß man sie mit der Gewebsschicht nach unten auf der Flüssigkeit schwimmen lassen.

Die DOMINICIsche Eosin-Orange-Toluidinblaufärbung gebrauche ich in der Weise, daß ich mir wieder zwei Stammlösungen herstelle; die eine besteht aus 0·25 Eosin w. G. und 0·3 Orange G in 50 cc Wasser; die andere aus 0·25 Toluidinblau in 50 cc Wasser. Hier werden die Lösungen aber nicht vermischt, sondern sie werden nacheinander angewandt. Zuerst kommen die Präparate in die Eosin-

Orangelösung für 20 bis 30 Minuten; dann folgt kurzes Auswaschen in 60prozentigem Alkohol und Färbung in der Toluidinblaulösung während $^1/_2$ bis 1 bis 2 Minuten. Dann wird mit 96prozentigem Alkohol differenziert, bis keine Farbstoffwolken mehr abgehen und wie bei Eosin-Azur in Balsam eingeschlossen. Das Resultat der Färbung ist ähnlich wie nach Eosin-Azur, nur herrschen die violetten Töne vor.

Eine sehr gute Modifikation dieser Methode, die noch viel farbenprächtigere Bilder liefert, hat Herr Kollege N. Tischutkin ausgearbeitet; statt der eben angegebenen Eosin-Orangemischung gebraucht man eine Mischung von 10 cc einer zur Hälfte (mit Wasser) verdünnten (filtrierten) konzentrierten wässerigen Lösung von Orange G und von 2 cc einer konzentrierten Lösung von Jodeosin in absolutem Alkohol.

Bei Anwendung auf Schnitte und Deckglaspräparate steht die Dominicische Färbung der Eosin-Azurfärbung im allgemeinen doch nach, denn bei der letzteren erscheinen alle Gewebsbestandteile schärfer und elektiver gefärbt. Die Dominici-Färbung ist aber in manchen speziellen Fällen geradezu unersetzlich — nämlich dann, wenn es sich um Stücke von relativ dicken Gewebsmembranen, z. B. der Dottersackwand, handelt, die nicht geschnitten und nicht angeklebt werden, sondern von Anfang bis zu Ende frei, einzeln bearbeitet werden. Hier gibt die Eosin-Azurfärbung immer eine nur sehr undeutliche, verschwommene Färbung, und außerdem entstehen bei Anwesenheit großer Blutmengen in den Gefäßen störende kristallinische Niederschläge. Nach der Eosin-Orange-Toluidinblaufärbung bieten hingegen solche Gewebsmembranen äußerst klare und schöne Bilder, die ich in einer anderen Arbeit beschrieben habe (8).

Was die Haltbarkeit der nach den beschriebenen Methoden behandelten und gefärbten Präparate betrifft, so muß ich vor allem hervorheben, daß in dieser Beziehung das wichtigste die Qualität der Reagentien und vor allem des schließlich zur Anwendung kommenden Xylols und des Balsams ist. Wenn es nicht die besten reinsten Marken sind (Xylol purissimum Kahlbaum, Kanadabalsam rectificat. fest. neutral Grübler), dann kann man sicher erwarten, daß die Präparate in ein paar Monaten total abblassen, besonders wenn sie in einem hellen Raume aufbewahrt werden. Bei Beachtung der angegebenen Vorsichtsmaßregeln halten sie sich aber im allgemeinen ziemlich lange; ich besitze 2 bis 3 Jahre alte Schnittpräparate, die die ursprüngliche Färbung bis jetzt noch unverändert zeigen. Un-

günstiger sind die Verhältnisse für die Deckglaspräparate. Trotz aller Vorsichtsmaßregeln blassen sie meistens schon nach einem Jahre stark ab. Ebenso geht es augenscheinlich den dekalzinierten Präparaten und ferner Celloïdinschnitten, die nicht angeklebt wurden, sondern frei geblieben und mit dem Celloïdinmantel gefärbt und eingeschlossen sind.

Ich wiederhole schließlich noch einmal, daß nach meiner Überzeugung die beschriebenen Fixierungs-, Serienschnitt- und Färbungsmethoden manchem Fachkollegen nicht nur bei speziell hämatologischen, sondern auch überhaupt bei verschiedenen histogenetischen Untersuchungen am Wirbeltierembryo von Nutzen sein könnten.

Literatur.

1) Dantschakoff, Zur Herstellung der Celloïdinserien (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXV, 1908).

2) Helly, Eine Modifikation der Zenkerschen Fixierungsflüssigkeit (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXI, 1904).

3) Helly, Zur Morphologie der Exsudatzellen usw. (Zieglers Beiträge Bd. XXXVII, 1904).

4) Jolly, Sur quelques points de l'étude des globules blancs dans la leucémie etc. (Laboratoire d'histologie du Collège de France. Travaux de l'année 1902—1903).

5) Marchand, Über die natürliche Fixierung von Blutpräparaten (Med. Gesellsch. zu Leipzig, 17. Dez. 1907; München. med. Wochenschr. 1908, No. 8, p. 423).

6) Maximow, A., Experimentelle Untersuchungen über entzündliche Neubildung von Bindegewebe (Zieglers Beiträge, Suppl. V, Jena 1902).

7) Maximow, A., Über die Zellformen des lockeren Bindegewebes (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXVII, 1906).

8) Maximow, A., Untersuchungen über Blut und Bindegewebe. 1. Die frühesten Entwicklungsstadien der Blut- und Bindegewebszellen beim Säugetierembryo usw. (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXXIII, 1909).

9) Nocht, Artikel „Malariaplasmodien" in der Enzyklopädie der mikroskopischen Technik, 1903, p. 785.

10) Rubaschkin, Eine neue Methode zur Herstellung von Celloïdinserien (Anat. Anzeiger Bd. XXXI, 1907).

11) Schridde, Die Darstellung der Leukocytenkörnelungen im Gewebe (Zentralbl. f. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. Bd. XVI, No. 19).

12) Suzuki, Eine einfache Schnittserienmethode bei der Celloïdineinbettung (Anat. Anzeiger Bd. XXXIV, 1909).

[Eingegangen am 15. Juni 1909.]

Untersuchung über die Einwirkung des denaturierten Alkohols auf tierische Organe und seine Verwendbarkeit in der mikroskopischen Technik.

Von

Stud. med. C. Kittsteiner
in Würzburg.

Hierzu eine Textabbildung.

In vorliegender Arbeit handelt es sich um Äthylalkohol, welcher im Deutschen Reich für allgemeine Zwecke nach folgenden Vorschriften denaturiert wird:

Zu je 100 Liter reinen Äthylalkohols werden 2 Liter Methylalkohol und 500 cc Pyridinbasen zugefügt.

Der zur Denaturierung verwandte Methylalkohol ist den amtlichen Vorschriften entsprechend kein reiner Methylalkohol, sondern ist stark verunreinigt. Er enthält vorschriftsmäßig etwa 30 Prozent Aceton, geringe Mengen von Allylalkohol und Spuren von Acetonölen und Ketonen. Für die zur Denaturierung verwandten Pyridinbasen besteht die Bestimmung, daß bei der Destillationsprobe bei 140° mindestens 50 cc und bei 160° mindestens 60 cc übergangen sein sollen. Man erhält so ein Gemisch, welches der Hauptsache nach aus eigentlichem Pyridin besteht, geringe Mengen Picolin und Lutidin, und noch geringere Mengen Collidin enthält. — Es besteht also der 90prozentige Spiritus, der allgemein im Gebrauch ist und auf den sich diese Untersuchung bezieht, aus:

Äthylalkohol	88·02	Prozent
Wasser	9·77	„
Methylalkohol	1·23	„
Aceton	0·53	„
Pyridinbasen	0·44	„

dem Volum nach.

Im Grunde genommen hat man es also mit einem 90prozentigen Äthylalkohol zu tun. Von dem Methylalkohol war bei dem hier in Betracht kommenden geringen Prozentsatz und seinem dem Äthylalkohol sehr ähnlichen chemischen Verhalten keine wesentliche Abweichung von der Wirkung des Äthylalkohols zu erwarten; das Aceton, mit welchem der Methylalkohol hauptsächlich verunreinigt ist, verhält sich bei der Fixation den in Betracht kommenden Eiweißarten gegenüber wie Äthylalkohol (A. Fischer), ist auch schon zum Fixieren vorgeschlagen worden und wird in manchen Fällen als Zwischenflüssigkeit bei der Einbettung in Paraffin an Stelle des Chloroforms usw. verwandt[1]. Von einer ungünstigen Wirkung des Acetons ist bis jetzt nichts verlautet. Man kann deshalb eine solche auch nicht im denaturierten Alkohol annehmen. — Über die Einwirkung der Pyridinbasen auf tierische Organe war nichts bekannt. Vernachlässigt konnten sie auch nicht werden, da ihr Prozentgehalt viel zu hoch war. Man mußte also, um auf alle Fälle sichere Resultate zu erhalten, den direkten Einfluß des denaturierten Alkohols auf tierische Organe untersuchen. Zu diesem Zweck wurden Organstücke von mehreren Kaninchen der Einwirkung von denaturiertem Alkohol unterworfen, und zwar wurde diese Flüssigkeit teilweise zum Fixieren, teilweise zum Härten nach vorausgegangener Fixation mit nicht alkoholhaltigen Mitteln angewandt; auch kam zur Fixation ein Gemisch von denaturiertem Alkohol und Essigsäure in Anwendung. — Wir besprechen zunächst die

Fixation:

Kleine Stücke der verschiedenen Organsysteme wurden lebenswarm in große Mengen des denaturierten Alkohols gebracht, der immer in voller Konzentration angewandt und hinreichend gewechselt wurde. Nachdem die Stücke in diesem Alkohol 3 Tage gelegen hatten, wurde jedes Stück geteilt. Je eine Hälfte wurde in 90prozentigen reinen Äthylalkohol gebracht, die andere Hälfte blieb im denaturierten Alkohol. Es geschah dies zu dem Zweck festzustellen, ob die Dauer des Verweilens in der zu untersuchenden Fixierungs-

[1]) Brunk, A., Über die Acetonanwendung zur Paraffineinbettung (Münch. med. Wochenschr. 1905).

Sitten, A. E., Erfahrungen über Aceton-Paraffineinbettung (Zentralbl. f. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. Bd. XII, 1905).

flüssigkeit Einfluß auf die Struktur des Organes hat. Die Stücke wurden dann in der üblichen Weise geschnitten (Freihandschnitte), einfach oder wenn zweckmäßig doppelt gefärbt und in Kanadabalsam eingeschlossen. Dabei ist der Umstand nicht außer acht zu lassen, daß alle Schnitte den absoluten Äthylalkohol passieren mußten, wodurch vielleicht Pyridinbasen usw. aus denselben ausgewaschen wurden. Mit Hilfe von Karbolxylol gelingt es aber auch, die Schnitte direkt aus denaturiertem Alkohol von 90 Prozent in Kanadabalsam einzuschließen, wenn man nur den betreffenden Schnitt durch Auftupfen von Fließpapier möglichst von dem denaturierten Alkohol befreit (B_1—B_3)[1]. Da nun kein Unterschied zwischen den derart hergestellten Präparaten und denen, welche den absoluten Alkohol passiert haben, zu erkennen ist, können die Schnitte, ohne das wahre Resultat dieser Arbeit zu beeinflussen, als brauchbares Material dienen. — Ein anderer Teil von Organstücken wurde in eine Flüssigkeit gebracht, welche bestand aus:

Denaturiertem Alkohol. . . . . 75 Prozent
Acid. acetic. glaciale . . . . 25 „

Nachdem diese Flüssigkeit 7 Stunden eingewirkt hatte, wurden die Stücke in absoluten Alkohol gebracht und kamen dann nach 3 Tagen in 90prozentigen Äthylalkohol[2].

Um schließlich brauchbare Vergleiche anstellen zu können, wurden noch Organstücke in reinen absoluten Äthylalkohol und ebenso auch in Äthylalkohol von 90 Prozent eingelegt. Nach 3 Tagen kamen alle Stücke, die in absolutem Alkohol lagen, in Äthylalkohol von 90 Prozent (Stöhr). Die weitere Behandlung war wie beim denaturierten Alkohol.

Härtung:

Bei fast allen Fixationen, mit Ausnahme der mit absolutem Alkohol hervorgerufenen, ist eine nachherige Härtung in allmählich verstärktem Alkohol erforderlich. Da nun bei den auf diese Weise behandelten, zum Schneiden fertigen Organstücken das endgültige Resultat der Fixation zu einem beträchtlichen Teil auch eine Folge

[1]) Die in Klammern eingeschlossenen Zahlen bedeuten die Nummern der bezüglichen Präparate.

[2]) Böhm u. Oppel, Taschenbuch der mikroskopischen Technik. 6. Aufl. München u. Berlin (Verlag R. Oldenbourg).

der Alkoholbehandlung ist[1], so waren durch unser Thema auch Versuche über die Einwirkung des denaturierten Alkohols bei der Härtung notwendig. Als Fixierungsflüssigkeiten wurden die MÜLLERsche und die ZENKERsche Flüssigkeit gewählt. — In beiden Fixierungsmitteln fixierte Organstücke wurden im Dunkeln den allgemeinen Vorschriften entsprechend gehärtet. MÜLLER-Präparate kamen in ansteigenden denaturierten Alkohol bis 90 Prozent. Ebenso wurden ZENKER-Präparate behandelt; hier wurde dem 90prozentigen denaturierten Alkohol Tinctura Jodi zugesetzt bis zur Erreichung der Kognakfarbe[2].

Jod und Pyridin verbinden sich nicht. Höhere Homologen des Pyridins werden von Jod oxydiert zu Pyridinkarbonsäuren, was jedoch bei dem geringen Prozentsatz des denaturierten Alkohols an höheren Homologen kaum in Betracht kommen dürfte.

Nach achttägigem Aufenthalt im Jodalkohol wurden die Stücke auf 8 Tage in reinen 90prozentigen, denaturierten Alkohol gebracht und darauf in der üblichen Weise weiter behandelt.

Von sämtlichen, in der oben angegebenen Weise verschieden behandelten Organstücken wurden Schnitte gemacht und alle diese Schnitte systematisch mit Hilfe zum Teil sehr starker Vergrößerungen (Ölimmersion LEITZ $^1/_{16}$) untersucht und verglichen. Während nun Zellgrenzen, fibrilläre Strukturen usw., auch das Plasma des Zelleibes keinen merklichen Unterschied der Fixierungsflüssigkeiten (soweit sie alkoholischer Natur sind) zeigen, kann man das Resultat der Fixierung mit denaturiertem Alkohol dahin zusammenfassen, daß bei dieser Fixation sehr viel mehr Schrumpfungen der Kerne (hauptsächlich aus Zellen des Drüsengewebes) zu verzeichnen sind, als bei Fixation mit absolutem oder 90prozentigem oder mit Essigsäure versetztem Äthylalkohol, und daß die Schrumpfungserscheinungen auch viel augenfälliger werden (A_1—A_{33}). — Um das aber sicher konstatieren zu können, mußte eine systematische Zählung der gut fixierten und der geschrumpften Kerne angestellt werden. Dabei war noch eine Schwierigkeit die, in einem gegebenen Falle zu entscheiden ob die betreffende Deformierung des Kernes nun wirklich eine von der Fixation herrührende Schrumpfung, oder eine Verletzung oder Verzerrung des Kernes durch den Schnitt und dergleichen sei. Deshalb

---

[1]) FISCHER, A., Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas. Jena (G. Fischer).

[2]) STÖHR, PH., Lehrbuch der Histologie des Menschen. 12. Aufl. Jena (G. Fischer).

wurden alle diejenigen Kerne, bei denen die Entscheidung Schwierigkeiten machte, von der Zählung ausgeschlossen. Unter anderen Umständen wären die Resultate unsicher geworden. — Die Zählung wurde so bewerkstelligt, daß mit dem Zeichenokular die normalen, so wie die geschrumpften Kerne bildlich dargestellt, danach gezählt und prozentualiter berechnet wurden. Die folgende Tabelle gibt die Ergebnisse einer Zählung, wie sie z. B. hier an Leberschnitten angestellt wurde, wieder. — Bei anderen Organen sind die Resultate ganz ähnlich. Gut fixierte Kerne sind mit einfach gedruckten, geschrumpfte mit fett gedruckten Ziffern bezeichnet:

	Fixierungsflüssigkeit:									
Zählung	Denat. Alkoh. kurze Zeit		Denat. Alkoh. lange Zeit		Denat. Alkoh. u. Essigsäure		Absol. Alkoh.		Alkohol von 90 Prozent	
No.	—		Zahl		der		Kerne		—	
1)	19	**2**	29	**6**	38	**5**	28	**3**	25	**4**
2)	21	**2**	33	**4**	24	**3**	13	**3**	26	**2**
3)	21	**4**	32	**3**	27	**2**	33	**3**	30	**2**
4)	36	**6**	29	**7**	37	**3**	32	**7**	36	**2**
5)	24	**3**	33	**6**	38	**2**	35	**4**	26	**4**
6)	24	**2**	24	**6**	23	**3**	36	**2**	42	**1**
7)	33	**5**	33	**5**	41	**7**	22	**4**	30	**7**
8)	41	**6**	33	**7**	28	**10**	30	**5**	24	**4**
9)	34	**5**	30	**8**	32	**4**	37	**6**	23	**2**
	14,2 %		**19,3** %		**12,5** %		**13,3** %		**10,3** %	

geschrumpfte Kerne.

Aus der Tabelle geht deutlich der negative Einfluß des denaturierten Alkohols bei längerer Einwirkung auf Organstücke hervor, indem sich der kurzen Einwirkung gegenüber ein Fehler von etwa 5 Prozent ergibt. Ferner sieht man, daß nicht immer der absolute Alkohol bessere Resultate gibt als der 90prozentige.

Mit dem 90prozentigen Äthylalkohol verglichen erhält man bei Fixation mit denaturiertem Alkohol einen Fehler von 9 Prozent. Mit absolutem Äthyl-

alkohol verglichen beträgt der Fehler 6 Prozent. (Bei langer Einwirkung des denaturierten Alkohols.) —

Beim Härten mit denaturiertem Alkohol sind die Resultate weit günstiger (D_1—D_9). Zum Teil hat diese Härtung nicht schlechtere Resultate ergeben als die mit ansteigendem Äthylalkohol.

Die makroskopische Schrumpfung der Organstücke ist nicht untersucht worden.

Um nun zu erfahren, durch welche Bestandteile des denaturierten Alkohols dieser negative Einfluß hervorgerufen wird, wurden eine Anzahl von Untersuchungen verschiedenster Art an Hühnereiweiß angestellt, das sich im allgemeinen ähnlich wie die in der Zelle enthaltenen Eiweißkörper verhält. Es wurde sowohl mit denaturiertem Alkohol allein behandelt, als auch nur mit den Bestandteilen desselben, die einzeln oder in mannigfachen Kombinationen zur Anwendung kamen. Im folgenden sind die hauptsächlichsten Resultate der Versuche aufgezählt:

1) Eiweiß mit absolutem oder 90prozentigem Äthylalkohol versetzt koaguliert; das koagulierte Eiweiß löst sich im Überschuß des betreffenden Fällungsmittels in sehr geringem Maße.

In Betracht kommt hier die hauptsächlich in Kernen enthaltene Nukleïnsäure und Denteroalbumose, deren Fällungen in H_2O leicht löslich sind (A. Fischer). Diese Erscheinung ist mit ein Grund, warum überhaupt bei Alkoholfixierung Schrumpfungen eintreten.

2) Ebenso verhält sich Methylalkohol. Desgleichen ein Gemisch von Äthyl- und Methylalkohol.

3) Pyridin rein oder mit Wasser verdünnt löst, vermöge seiner stark alkalischen Eigenschaft (auch denaturierter Alkohol ist gegen Lackmus alkalisch), alle Eiweißarten, die durch Alkohol (oder Pyridin) gefällt sind, mit großer Leichtigkeit auf. Dabei wird das Eiweiß denaturiert, d. h. es ist in der Lösung als solches nicht mehr nachweisbar. Die Gegenwart von Alkohol erschwert die Auflösung zwar, verhindert sie aber nicht. (Ähnlich verhält sich Pyridin zu durch Hitze koaguliertem Eiweiß.)

4) Pyridin löst durch Chromsäure usw., Sublimat usw., Ammonium molybdänicum, Salpetersäure, Essigsäure, Pikrinsäure, Formol, gefälltes Eiweiß im allgemeinen nicht, wenn überhaupt, dann nur teilweise und in sehr geringem Maße auf, ein Umstand, der als günstiges Moment bei der Härtung mit denaturiertem Alkohol nach vorherigem Gebrauch der entsprechenden Fixierungsmittel in Betracht kommen dürfte.

5) Lutidin, ein höheres Homologen von Pyridin, löst Eiweiß fast gar nicht aut.

Die noch höheren Homologen, wie Collidin, lösen es noch weniger, haben also für vorliegende Untersuchung keine Bedeutung, zumal da sie in sehr geringem Prozentsatz vorkommen.

Die höheren Homologen des Pyridins lösen sich um so schwerer in Wasser, je höher das Homologon ist. In demselben Verhältnis werden sie leichter entzündlich (Entzündungstemperatur des Pyridins liegt erst beim Siedepunkt) und erhöht sich ihr Siedepunkt, Eigenschaften, welche mit der Erhöhung des Molekulargewichtes zusammenhängen (s. unten). Pyridin kann seiner chemischen Konstitution nach als ein Benzol betrachtet werden, in welchem an Stelle einer CH-Gruppe ein N-Atom den Ring schließt. — Die Homologen des Pyridins sind Derivate, in denen Wasserstoff des Pyridins durch Alkylreste (CH_3) ersetzt ist:

Pyridin	C_5H_5N
Picolin (Methylpyridin)	C_6H_7N
Lutidin (Dimethylpyridin)	C_7H_9N
Collidin (Trimethylpyridin)	$C_8H_{11}N$
[Parvolin (Tetramethylpyridin)	$C_9H_{13}N$][1].

Man sieht also nun deutlich, was die Schrumpfung der Kerne bei der Fixation fast ausschließlich veranlaßt:

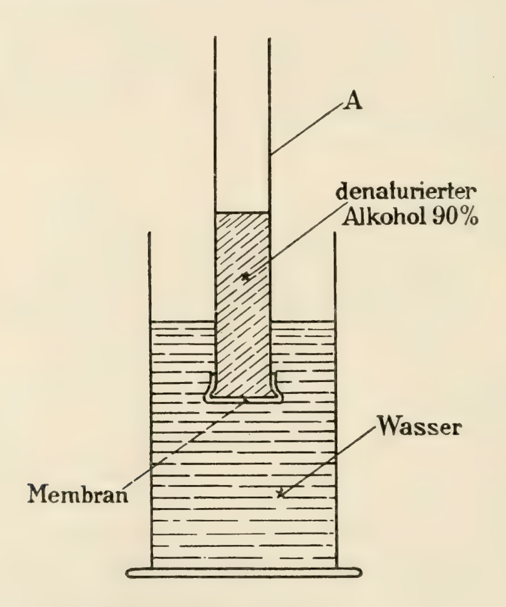
Es ist das Pyridin. Mit Hilfe von Wasser, das ja im 90prozentigen denaturierten Alkohol enthalten ist, löst es einen Teil der Kernbestandteile auf. Da es nicht möglich war, mit Hilfe von basischen oder sauren Farbstoffen zu konstatieren, welche Kernbestandteile besonders vom Pyridin angegriffen würden, so ist es wahrscheinlich, daß ziemlich gleichmäßig sämtliche Kernbestandteile gelöst werden (A_1, A_7, C_3, C_5, C_{11}—C_{13}). Daß nur der Kern schrumpft und man an Zellplasma usw. keine Veränderung wahrnimmt, liegt jedenfalls an dem chemischen oder physikalischen (an einer Kugel z. B. erkennt man eine Formveränderung viel leichter) Unterschied zwischen Zelleib und Zellkern.

Um aber das ganze Verhalten des denaturierten Alkohols endgültig beurteilen zu können, mußte man wissen, in welcher Reihenfolge die Bestandteile des denaturierten Alkohols durch die Zell-

---

[1]) v. Buschka, Die Chemie des Pyridins und seiner Derivate. Braunschweig 1889—1891.

bzw. Kernmembranen durchtreten. Wenn z. B. das Pyridin zuerst diffundierte, so würde jedenfalls das Fixierungsresultat bedeutend ungünstiger sein, da Pyridin Eiweißkörper zwar auch koaguliert, aber dieses koagulierte Eiweiß mit großer Leichtigkeit auflöst. Aus dieser Lösung fällt Alkohol keine Eiweißart mehr aus. Der umgekehrte Fall wäre günstiger: Die durch Alkohol koagulierten Eiweißarten lösen sich im Pyridin ungleich schwieriger, besonders da in denselben noch freier Alkohol enthalten ist, welcher die Auflösung durch Pyridin verzögert. — Es seien deshalb hier die diesbezüglichen Versuche angegeben:



Eine Vorrichtung, wie man sich ihrer gewöhnlich zu Versuchen über Diosmose bedient und wie sie in nebenstehender Figur abgebildet ist, wurde mit den zu untersuchenden Substanzen gefüllt. — Die Membran bestand aus Pergamentpapier.

Versuch I.

Anordnung: In dem Membranrohr *A* war denaturierter Alkohol von 90 Prozent. Das Membranrohr hing in Wasser (s. Fig.).

Verlauf: Äthyalalkohol diffundiert ins Wasser (Nachweis Jodoformprobe). Desgleichen Methylalkohol (Nachweis mit Lösung

von Kaliumpermanganat in Wasser 1:1000, welche in der Kälte von Methylalkohol entfärbt wird, nicht aber von Äthylalkohol). Wasser diffundiert in das Membranrohr und das Pyridin.

Versuch II.

Anordnung: In dem Membranrohr *A* denaturierter Alkohol von 90 Prozent. Das Membranrohr hing in Eiweiß (Fig. wie p. 198, nur entsprechend umgeänderte Bezeichnungen).

Verlauf: Äthyl- und Methylalkohol diffundieren ins Eiweiß. Wasser wird dem Eiweiß entzogen und diffundiert in das Membranrohr zu dem Alkohol und Pyridin. (Um Äthylalkohol im Eiweiß nach diesem Versuch nachzuweisen, gieße man dasselbe in einen Porzellanmörser, gebe je eine Messerspitze Ätzkali und Jod hinzu und menge das Ganze mit der Pistille. Es tritt Geruch nach Jodoform auf; reines Hühnereiweiß gibt diese Reaktion nicht, ebenso wie mit Methylalkohol koaguliertes Eiweiß.)

(Um im Eiweiß freien Methylalkohol nachzuweisen, muß man das Alkoholgemisch vom Eiweiß abdestillieren. Im Destillat ist dann mit Kaliumpermanganatlösung Methylalkohol nachweisbar.)

Versuch III.

Anordnung: In dem Membranrohr *A* Pyridin. Das Membranrohr hing in Eiweiß.

Verlauf: Wasser des Eiweißes diffundiert ins Pyridin; Pyridin diffundiert sehr langsam ins Eiweiß.

Versuch IV.

Anordnung: In dem Membranrohr *A* befand sich denaturierter Alkohol (dem noch ein Tropfen Pyridin zugesetzt war). Das Membranrohr hing in Eiweiß.

Verlauf: Nach 10 Minuten wurde der Versuch unterbrochen und im Eiweiß wie oben beide Alkohole nachgewiesen. Pyridin war noch nicht diffundiert. Erst nach 3 bis 4 Stunden war es nachweisbar.

* * *

Dadurch ist sicher erwiesen, daß zuerst Alkohol in die Zelle und den Kern diffundiert und dort die Eiweißkörper koaguliert. Später dringt auch das Pyridin ein und erzeugt, indem es einen Teil der Bestandteile des Kernes auflöst, die Schrumpfung.

Aus dieser Tatsache folgt nun ohne weiteres, daß man bei etwaigem Gebrauch den denaturierten Alkohol nur so lange einwirken lassen darf, als es zur Fixation unbedingt erforderlich ist, ein Resultat, welches in obenstehender Tabelle bereits empirisch gefunden worden war.

Nun darf man allerdings nicht alle diese Beobachtungen an Hühnereiweiß ohne weiteres auf die Zelle übertragen. Aber da es sich im wesentlichen um Lösung der Fällung von Kernbestandteilen durch Pyridin handelt, und es sicher ist, daß dieses sämtliche durch Alkohol gefällte Eiweißkörper — wenn auch in verschiedenem Maße — löst, so dürften mit einem gewissen Recht doch in diesem Falle die gezogenen Schlüsse erlaubt sein, zumal die durch Empirie an der Zelle selbst gewonnenen Resultate dafür sprechen. — In betreff der Versuche über Diosmose möge noch bemerkt sein, daß zwar die Zahlenwerte der osmotischen Druckdifferenz bei den einzelnen Eiweißkörpern gewissen Schwankungen unterworfen sind, daß aber immer eine derartige Differenz vorhanden sein wird, daß die Reihenfolge bei der Diosmose der Bestandteile des denaturierten Alkohols durch eine Membran dieselbe ist, wie sie sich bei unseren Versuchen ergeben hat.

Schließlich kann man noch aus den vorhergehenden Versuchen erkennen, warum denn überhaupt bei Fixation mit reinem oder wasserhaltigem Alkohol Schrumpfungen auftreten: Das Wasser der Eiweißkörper diffundiert sehr rasch in den Alkohol. Wenn nun aus dem Kern, der meistens eine prall gefüllte Kugel oder ein Oval darstellt, mehr Wasser austritt, als Alkohol eintritt, so muß eine Schrumpfung entstehen, welche von den um den Kern spülenden Alkoholmengen fixiert wird. Ist keine Kernmembran da, so wirkt für die Diosmose als Membran erfahrungsgemäß eine Nukleïnschicht, welche die Oberfläche des Kernes begrenzt; anstatt einer geschrumpften Kernmembran wird in diesem Falle eine geschrumpfte Nukleïnschicht fixiert. Nach A. Fischer ist der Alkohol zudem noch untauglich, aus Albumosen und Nukleïnsäure bestehende, im Leben noch ganz oder halb gelöste Bestandteile der Zelle in den Präparaten zu erhalten. Immerhin müßten aber die übrigen fixierten Eiweißkörper

der Zelle bzw. dem Zellkern genügend Widerstandsfähigkeit erteilen, so daß bei einer Auflösung der beiden oben genannten Eiweißkörper die runde Gestalt des Kernes oder einer Zelle erhalten bleiben müßte. — Der rasche Wasseraustritt dürfte der Hauptgrund der Schrumpfungen bleiben. Es ist also vielleicht ratsam nicht immer mit absolutem Alkohol zu fixieren, sondern mit ansteigendem von 70 Prozent an. Dabei löst allerdings ein wasserhaltiger Alkohol die oben genannten Eiweißarten leichter auf als ein wasserarmer, eine Erscheinung, die aber weit augenfälliger im Reagenzglas beim Schütteln und Kochen wird als im mikroskopischen Präparat. — Dahingegen ist anderseits anzunehmen, daß die Diffusionen in der Zelle bei Behandlung mit Alkohol viel stürmischer vor sich gehen als in einem zum Zwecke von diosmotischen Versuchen konstruierten Apparate. —

Zum Schluß seien noch einige Bemerkungen über die Verwendbarkeit des denaturierten Alkohols in der mikroskopischen Technik gestattet:

Zum Fixieren ist er verwendbar im allgemeinen wie Äthylalkohol von 90 Prozent, also nur da, wo es sich um Übersichtsbilder handelt und es auf einige geschrumpfte Kerne mehr nicht ankommt. Durch Zusatz von 25 cc Eisessig zu 75 cc denaturierten Alkohols kann man die Wirkung wesentlich verbessern (vgl. Tabelle p. 195).

Epithelgewebe, Drüsengewebe und seine Abkömmlinge liefern mit die besten Resultate[1], die sich zum Teil (Speicheldrüse, Lunge, Milz, Niere) kaum nachteilig von den mit absolutem und 90prozentigem Äthylalkohol erhaltenen unterscheiden. — Das Gewebe der Stützsubstanz liefert (überhaupt mit Alkohol) schlechte Resultate mit Ausnahme des Bindegewebes und besonders des elastischen Gewebes, welches wie gegen absoluten Äthylalkohol sich verhält. — Das Muskelgewebe gibt mit Ausnahme der Elemente der glatten Muskulatur, welche sich sehr schlecht fixieren, Resultate, die oft hinter den mit Äthylalkohol erhaltenen nicht nachstehen. Querstreifung mit allen ihren Einzelheiten (auch Unterschied zwischen weißem und rotem Muskel), fibrilläre Struktur ist schön zu erkennen. Vom Nervengewebe wurde nur das Zentralnervensystem untersucht. Es gibt die denkbar schlechtesten Bilder. Motorische

[1]) Alle Angaben beziehen sich auf denaturierten Alkohol ohne Zusatz von Essigsäure.

Zellen verschwinden ganz. Zu seiner Fixierung ist der denaturierte Alkohol unbrauchbar.

Zur Härtung ist derselbe fast ebenso brauchbar wie ansteigender Äthylalkohol, was schon oben hervorgehoben wurde. Man sieht bei den meisten diesbezüglichen Präparaten keinen nachteiligen Unterschied. Die gehärteten Stücke schneiden sich gut.

Auf Färbung scheint der denaturierte Alkohol auch keinen nachteiligen Einfluß auszuüben. Selbst Färbungen mit dem empfindlichen Safranin und mit Golgis Methode gelingen fehlerfrei. In dieser Beziehung wurden untersucht:

Von basischen Farbstoffen: Boraxkarmin, Hämatoxylin, Safranin.

Von sauren Farbstoffen: Eosin und Rubin S (Säurefuchsin).

Auch Kombinationen dieser Farbstoffe zum Zweck von Doppelfärbungen kamen zur Anwendung (C_2—C_{13}).

Der Gebrauch des denaturierten Alkohols in der mikroskopischen Technik müßte sich also so gestalten.

Fixieren: Wie allgemein mit 90prozentigem Alkohol nur möglichst kurze Zeit (nicht länger als 3 Tage). Dann werden die Stücke in reinen 90prozentigen Äthylalkohol übertragen, in dem sie aufbewahrt werden können. (Der Fehler beträgt dann im Verhältnis zum absoluten Alkohol nur 0·9 Prozent.)

Härtung, Färbung und die übrigen Manipulationen würden wie bei der Anwendung von Äthylalkohol von 90 Prozent vorzunehmen sein.

[Eingegangen am 15. Mai 1909.]

Apparat zum Schleifen des Mikrotommessers.

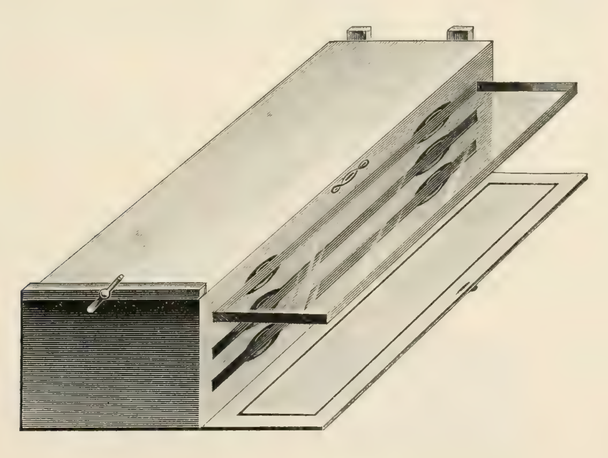
Von

Prof. J. Lendvai

in Temesvár.

Hierzu fünf Textabbildungen.

Es wird mir jedermann zugeben, daß die Vollkommenheit der Schnitte vor allem von der Vollkommenheit der Schneide des Mikrotommessers abhängt. Von den bisher gebräuchlichen Methoden ist — meiner Erfahrung nach — die von Apáthy eingeführte die beste.



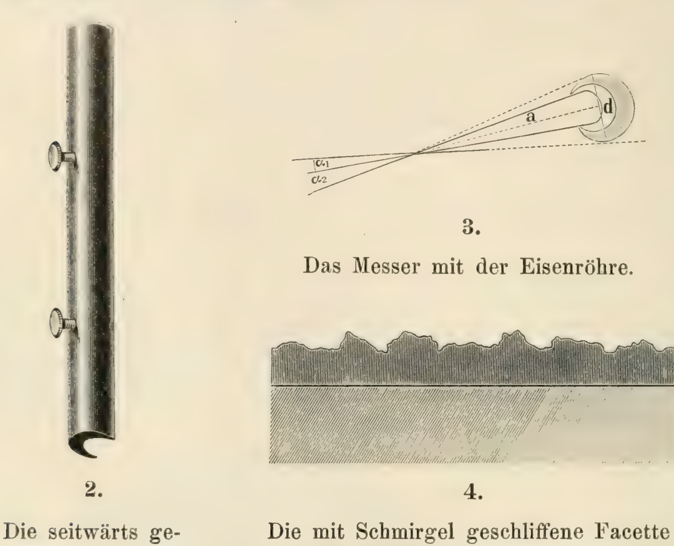
1.

Der Apparat.

Diese besteht in Anwendung von Schmirgel, Wiener Kalk, Eisenoxyd resp. Diamantinpulver auf drei Spiegelglasplatten. Zu dieser Schleifmethode habe ich einen Apparat konstruiert, welcher von C. Reichert in Wien verfertigt wird (Preis 50 K.).

Da das Schleifen des Messers mit Materialien verschiedener Härte geschieht, so sind wir — um die Vollkommenheit der Schärfe zu

sichern — genötigt drei geschliffene, sogenannte Spiegelglasplatten anzuwenden, von denen auf der ersten nur mit Schmirgel geschliffen wird, auf der zweiten nur mit Wiener Kalk, auf der dritten nur mit Eisenoxyd oder mit Diamantin.



3.

Das Messer mit der Eisenröhre.

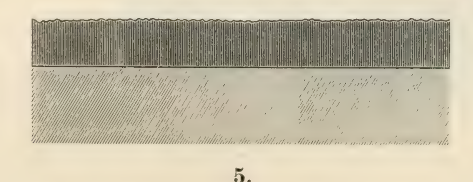
2.

Die seitwärts geöffnete Eisenröhre.

4.

Die mit Schmirgel geschliffene Facette bei 100facher Vergrößerung.

Die drei Glasplatten werden in einen hölzernen Block hineingeschoben, eine jede in eine separate Spalte, welche Spalten mit Tuch ausgefüttert sind. Das geschieht, damit die Platten außer



5.

Die mit Wiener Kalk geschliffene Facette bei 100facher Vergrößerung.

Gebrauch nicht bestaubt werden, oder mit fremden Materialien nicht in Berührung kommen außer den oben genannten, und infolgedessen das Messer während des Schleifens keine Scharte erhalte.

Beim Gebrauche nehmen wir die betreffende Glasplatte und legen sie auf die obere Fläche des Blockes, an dem sie mit Schrauben

befestigt wird. Auf die Glasplatte schmieren wir Schmirgelpappe, welche von feinem Schmirgelpulver und destilliertem Wasser bereitet ist; oder Wiener Kalkpappe, welche ebenfalls mit destilliertem Wasser bereitet ist; oder Eisenoxyd. Dann ziehen wir das Messer öfter (60- bis 70mal) über die Glasplatte, die Schneide nach vorn gehalten, in solcher Lage, daß die Schneide des Messers zur Bewegungsrichtung senkrecht stehe. Mitunter besichtigen wir die Schneide des Messers mit dem Mikroskop bei 100facher Vergrößerung, ob sie entsprechend ist.

Auf das Messer schleifen wir eine spezielle Facette von 20 bis 25 Grad. Das geschieht, indem man auf den Rücken des Messers eine seitwärts geöffnete Eisenröhre appliziert, welche mit Schrauben befestigt wird. Aus dem Diameter (d) der Eisenröhre und der Breite des Messers (a) berechnen wir den Winkel der Facette $(\alpha_1 + \alpha_2)$:

$$\frac{d}{2\,\mathrm{a}} = \operatorname{tg} \alpha_1 = \operatorname{tg} \alpha_2.$$

Die mit Schmirgel rauh bearbeitete Facette vervollständigen wir mit Wiener Kalk, währenddem die Schneide des Messers feine Sägezähne bekommt. Das Messer ist um so perfekter, je feiner die Sägezähne bei 100facher Vergrößerung sind.

Mit Eisenoxyd schleifen wir nur jene Seite der Facette spiegelglänzend, welche während des Schneidens auf Paraffin oder Celloïdin gleitet.

Das Messer wird in den Messerhalter so eingestellt, daß seine Breite (a) mit der Wagerechten einen Winkel von $\alpha_1 = \alpha_2$ Grade bildet.

Zu diesem Zwecke eignen sich die mit Schraube bewegbaren und fixierbaren Messerhalter am besten.

[Eingegangen am 10. März 1909.]

Fleischmanns Kritik meiner Celloïdin-Entkalkungsmethode.

Von

Dr. C. Francis Bödecker
in Berlin.

In Band XXV, Heft 3, dieser Zeitschrift veröffentlichte L. Fleischmann eine Entkalkungsmethode für Zahnschmelz, welche einfacher ist als die Celloïdin-Entkalkungsmethode[1]. Einfacher allerdings ist diese Methode; jedoch zweifele ich, daß man damit dieselben guten Resultate erzielt. Fleischmanns Methode besteht darin, daß ein dünner Schmelzschliff nach üblicher Vorbehandlung in Celloïdin eineingebettet und nach Erhärtung desselben in die Entkalkungslösung gelegt wird. Dieses Verfahren ist jedoch schon vor 12 Jahren von E. Rousseau[2] zur Entkalkung von Kalkschwämmen angewandt worden. Als ich Rousseaus Arbeit vor etwa 5 Jahren las, versuchte ich den menschlichen Zahnschmelz auf dieselbe Weise zu entkalken. Die erzielten Resultate waren jedoch nicht befriedigend. Der organische Bestandteil des Schmelzes ist so mit anorganischen Salzen imprägniert, daß ein Durchdringen mit Celloïdin ausgeschlossen ist. Aus diesem Grunde verlieren die feinen organischen Schmelzprismenscheiden ihre Stütze und werden zerrissen und zerstört, sobald die Säure den anorganischen Bestandteil löst. Es ist daher ausgeschlossen, die Scheiden in dieser Weise zu demonstrieren. Eine Ausnahme bilden nur: das Schmelzoberhäutchen und die von mir beschriebenen Schmelzlamellen, welche keine Kalksalze enthalten und daher von dem Celloïdin vor der Entkalkung durchdrungen werden. Diese Strukturen sind aber nicht imstande, selbst wenn keine störende Einwirkung vorhanden ist, die feinen organischen Bestandteile, d. h. die Prismenscheiden usw. annähernd in ihrer richtigen Lage zu halten. Durch die Gasentwicklung und den Austausch der Flüssigkeiten während der Entkalkung entsteht eine so lebhafte Bewegung, daß

---

[1]) Bödecker, C. F., Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXII, p. 190 u. Bd. XXV, p. 21.

[2]) Rousseau, E., Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XIV, 1897.

die feinen Schmelzscheiden nicht allein verschoben, sondern auch zum größten Teil zerrissen werden. Dieser Übelstand vermehrt sich noch, wenn der Schliff in einer geschlossenen Kammer aus festem Celloidin entkalkt wird, da die sich entwickelnden Gase das Celloïdinhäutchen nur langsam durchdringen können. Der so erzeugte Druck verursacht eine Formveränderung der Wandungen, welche eine weitere Verzerrung des entkalkten Schliffes zur Folge hat. Es ist zu bedauern, daß Fleischmann nicht einige Mikrophotogramme seiner Abhandlung beigegeben hat, so daß man die erzielten Resultate der zwei Methoden vergleichen könnte.

Ein weiterer Nachteil beim Entkalten in festem Celloïdin ist, daß letzteres nicht von dem Präparat entfernt werden kann, ohne dasselbe gänzlich zu zerstören. Wenn es jedoch nicht entfernt wird, wirkt es störend, da es viele der brauchbarsten Färbungen annimmt und das ganze Bild verschleiert.

Als sich Rousseaus Grundlage ungenügend zur Entkalkung von Zahnschmelz erwies, vervollkommnete ich eine Methode zur Entkalkung in flüssigem Celloïdin. Anstatt daß man das Celloïdin erstarren läßt und dann entkalkt, wird die Säure dem flüssigen Celloïdin zugesetzt. Hierdurch wird der Zahnsehmelz entkalkt, ohne daß sich Hohlräume bilden; denn sobald die Säure die anorganischen Substanzen löst, tritt das Celloïdin an deren Stelle und stützt die feinen organischen Strukturen so, daß sie weder zusammensinken noch auseinandergerissen werden können. Das spezifische Gewicht der 5prozentigen Celloïdinlösung ist nahezu dasselbe wie das des organischen Bestandteiles des Schmelzes, so daß letzteres gewissermaßen im Celloidin schwebt.

Diese Methode ist allerdings sehr umständlich und zeitraubend, aber die erzielten Resultate sind eine reichliche Belohnung für die angewandte Mühe. Daß die Entkalkung eine vollständige ist, wird dadurch bewiesen, daß man den fertig aufgeklebten, paraffin- und celloïdinfreien Schnitt der Wirkung von konzentrierter Salpetersäure für 24 Stunden aussetzen kann, ohne eine Verminderung der Quantität wahrzunehmen. Die Behauptung, daß durch Anwendung der flüssigen Celloïdin-Entkaltungsmethode keine dünnen Schnitte erzielt werden können, ist unzutreffend. Es ist mir gelungen, indem ich die Oberfläche des Paraffin-Celloïdinblockes mit Mastix überzog, 2 μ dicke Schnitte des ganzen Präparates herzustellen. Die Dicke der nach Fleischmanns Angaben hergestellten Präparate ist von der Dicke des unentkalkten Zahnschliffes abhängig. Es ist jedoch nicht mög-

lich, denselben so dünn zu schleifen, wie man ihn im entkalkten Zustande auf dem Mikrotom schneiden kann.

Der Einwand Fleischmanns gegen die Celloïdin-Entkalkungsmethode, „daß beim Erstarren des Celloïdins die sehr zarten, organischen Reste des Schmelzes verschoben werden müssen", widerspricht meinen Resultaten. Das Erstarren des Celloïdins geschieht gleichmäßig durch die ganze Masse, so daß eine Verschiebung der einzelnen Teile ausgeschlossen ist. Das Verhältnis der verschiedenen Teile des Gewebes zueinander wird daher nicht beeinträchtigt; wäre dies der Fall, so wäre wohl die Celloïdintechnik bei allen Geweben unverwendbar. Als weiteren Beweis dafür, daß diese Methode keine Verschiebung der feinen organischen Bestandteile des Schmelzes verursacht, verweise ich auf die im Anatomischen Anzeiger, Bd. XXXIV, Taf. 6, veröffentlichten Photogramme.

Fleischmanns Haupteinwand gegen die Celloïdin-Entkalkungsmethode ist, daß die saure Celloïdinlösung „wahrscheinlich überhaupt keine entkalkende Wirkung auszuüben vermag. Daß Bödecker für die kleinen Stücke trotzdem Entkalkung erzielt, dürfte darauf beruhen, daß bei der langen Dauer der Prozedur seitens des Äther-Alkoholgemisches Wasser angezogen wird." Dies ist jedoch nicht möglich, wenn das von mir beschriebene Gefäß zur Entkalkung benutzt wird. Der exakt passende Deckel wird durch eine starke Stahlspange auf das Gefäß gepreßt und mit Vaselin dicht gemacht, so daß die Äther-Alkoholdämpfe nicht entweichen können. Wenn sogar diese nicht entweichen, ist es ausgeschlossen, daß atmosphärisches Wasser angezogen wird. Seitdem ich zur Dichtung des Deckels Vaselin benutze, ist es mir gelungen, die richtige Konsistenz des Celloïdins mehrere Monate zu erhalten. Um die feststehende Tatsache der Entkalkung durch diese Methode zu erklären, ist es jedoch nicht nötig, die Einwirkung des Wassers aus der Atmosphäre anzunehmen. Die offizinelle konzentrierte Salpetersäure (spez. Gew. 1·15) hat 75prozentigen Wassergehalt. Die bei der Entkalkung des menschlichen Zahnschmelzes entstehenden Calcium- und Magnesium-Nitrate sind äußerst hygroskopische Salze und lösen sich in einem Teil Wasser. Da 8 cc Salpetersäure 6 cc Wasser enthalten, sind in einer 8prozentigen salpetersauren Celloïdinlösung 6 Prozent Wasser vorhanden. Zur Entkalkung eines 1 mm dicken Schmelzschliffes, der etwa 0·1 g wiegt, benutze ich 50 cc der obigen sauren Celloïdinlösung. Diese enthält 3 cc Wasser, welche ausreichend sind, die entstehenden Salze zu lösen.

Auf diesen vorstehenden Betrachtungen fußend, glaube ich mit Recht betonen zu können, daß Schmelzschliffe sich in einer sauren Celloïdinlösung vollständig entkalken lassen, und daß man durch Anwendung dieser Methode Präparate herstellen kann, die ein naturgetreues Bild der organischen Bestandteile des unentkalkten Schmelzes wiedergeben.

[Eingegangen am 1. Juli 1909.]

Eine einfache Methode zur Paraffineinbettung im Vakuum.

Von

Privatdozent Dr. W. Berg,

Assistent am Anatomischen Institut zu Straßburg i. Els.

L. Materna beschreibt im Bd. XXV, H. 1, dieser Zeitschrift einen neuen Vakuumparaffinofen, der in einfacherer Form von Stummer v. Traunfels angegeben, von ihm selbst verbessert wurde.

Materna benutzt einen kleinen Thermostaten, dessen Decke abnehmbar ist und der ein Glasgefäß aufnehmen kann, welches durch eine Wasserstrahlluftpumpe evakuiert wird, in deren Schlauchleitung u. a. auch ein Quecksilbermanometer eingeschaltet ist.

Meine kurze Mitteilung beabsichtigt nicht, eine Anordnung zu beschreiben, welche geeignet ist, diesen Apparat zu verdrängen oder zu ersetzen, ich will nur denen, die einen Versuch mit der Einbettung im Vakuum machen wollen oder bisweilen im Vakuum einzubetten haben, zeigen, daß man auch ohne Spezialthermostaten mit ziemlich jedem Paraffinofen unter Zuhilfenahme ganz einfacher Dinge bequem im Vakuum einbetten kann.

Seit etwa drei Jahren benutze ich folgende Anordnung: In der oberen Wand der Paraffinöfen ist eine (bei größeren Apparaten gewöhnlich deren zwei) Öffnung angebracht, um ein Thermometer in den Innenraum des Thermostaten führen zu können. Durch die Öffnung leite ich einen dickwandigen Gummischlauch, den ich durch einen passend durchbohrten Korken gegen die Wand der Öffnung

abdichte, damit kein Wärmeverlust entsteht. Der Schlauch trägt an seinem freien Ende im Innern des Ofens ein Stück Glasrohr, auf dem ein Gummistopfen aufsitzt, mit welchem ein Glaskolben passender Form und Größe (Extraktionskolben aus dem SOXLETHschen Fettextraktionsapparat oder Erlenmeyerkölbchen) fest verschlossen werden kann. Die Kolben sind so zu wählen, daß nur ihr unterster Abschnitt gefüllt zu werden braucht, da das Paraffin beim Auspumpen anfänglich etwas schäumt und somit in das Glasrohr resp. den Schlauch hineingepreßt werden kann. Bei passender Länge des Schlauches resp. des Glasrohres steht der Kolben im Apparat bequem auf. Das andere Ende des Gummischlauches wird an eine einfache Wasserstrahlluftpumpe angeschlossen, wie sie in jedem Laboratorium vorhanden ist. In die Schlauchleitung ist eine Flasche mit doppeltem Halse einzuschalten, um das eventuell eintretende Rückschlagen des Wassers in das Paraffingefäß zu vermeiden. Ein Manometer einzuschalten, erübrigt sich, wenn man darauf achtet, ob und in welcher Weise durch die Luftpumpe noch Luftperlen mitgerissen werden.

Die praktische Anwendung ist höchst einfach: Man beschickt den Kolben mit Paraffin und dem betreffenden einzubettenden Stück, stellt ihn in den Ofen, schließt ihn durch den Gummistopfen und pumpt ihn aus. Ist die Durchtränkung vollständig, so schließt man die Pumpe, entfernt den Stopfen vom Kolben und stellt den Block her.

Diese einfache Anordnung stört die gleichzeitige Benutzung des Paraffinofens in der üblichen Weise, d. h. zur Einbettung unter atmosphärischem Drucke in keiner Weise. Die Einbettung im Vakuum hat ihre, von MATERNA sehr richtig gewürdigten Vorzüge, scheint mir aber bei empfindlichen Objekten nicht besonders geeignet zu sein.

Zum Schluß habe ich noch darauf hinzuweisen, daß KOLSTER (diese Zeitschrift Bd. XVIII, H. 2) vorgeschlagen hat, zum Paraffineinbetten im Vakuum kurze Proberöhrchen zu benutzen und die ganze Anordnung irgendwie zu improvisieren.

Straßburg, den 21. April 1909.

[Eingegangen am 23. April 1909.]

Eine einfache Entwässerungs-, Härtungs- und zugleich Auswaschungsvorrichtung für mikrotechnische Zwecke.

Von

Prof. B. Suzuki
in Kyoto (Japan).

Hierzu zwei Textabbildungen.

Die bei der Applikation der steigenden Konzentration von Alkohol üblichen Maßregeln in der heutigen histologischen Technik bestehen in ziemlich grober Weise; die Objekte werden gewöhnlich zuerst in 50 Prozent, dann in 70 Prozent und 90 Prozent übertragen. Hierbei steigt der Alkoholgehalt nicht allmählich auf, sondern es geschieht immer sprungsweise und ist besonders für zarte Objekte sehr bedenklich.

So hat man auch nicht versäumt, um diesem Nachteil vorzubeugen, und verschiedene Methoden sind angegeben worden; unter denen halte ich den von A. Greil (diese Zeitschrift Bd. XXIII, H. 3) konstruierten Apparat für den exaktesten und sinnreichsten. Leider erfordert derselbe eine ziemlich komplizierte Vorrichtung, ja sogar die elektrische Betriebskraft, was an den besteingerichteten Instituten wohl durchführbar ist. Gerade wie bei uns, an den ärmeren, ist es schwer zugänglich.

Ich habe auch manchmal bei der Prozedur der Entwässerung recht kläglich gefühlt; so habe ich mir vor Jahren eine ganz einfache Vorrichtung erdacht, die sich durch ihre vorzügliche Leistung auszeichnet. Wenn ich nun aus der Greilschen Beschreibung recht verstanden haben will, bin ich fest überzeugt, daß mein Apparat ebenso exakt wie der Greilsche arbeitet, sogar übertrifft er ihn weit durch seine Einfachheit und Billigkeit. Im folgenden will ich eine kurze Beschreibung davon geben und glaube, daß er gewiß manche Interessenten dafür finden werde.

I. Die Entwässerungs- und zugleich Härtungsvorrichtung.

Der Apparat (vgl. Fig. 1) besteht aus einem am Boden mit einem U-förmigen Röhrenabschnitt miteinander verbundenen Doppelglaszylinder (*G 1, G 2*) und einem gewöhnlichen Glaskolben (*K*) von etwa 300 bis 500 cc Inhalt. Die übrigen kleinen Hilfsvorrichtungen kann man sich selber aus den für gewöhnlichen Gebrauch aufbewahrten Materialien des Institutes herstellen. Somit bildet der Doppelglaszylinder immerhin das Wesentlichste.

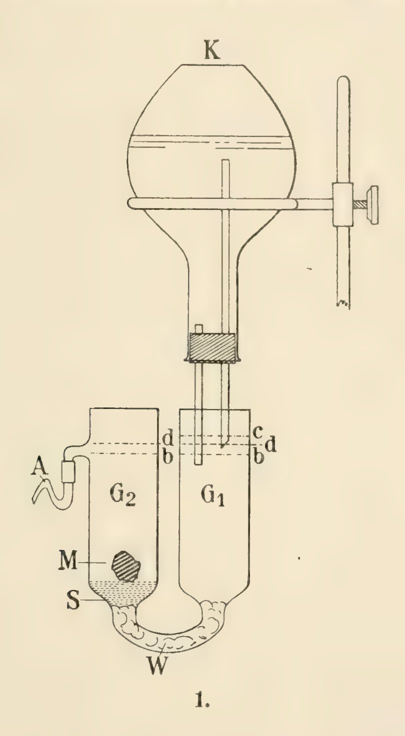
Dieser Doppelzylinder besteht aus zwei Schenkeln: dem Zufluß- (*G 1*) und Ablaufschenkel (*G 2*). Beide haben dieselbe Form und Größe; der Durchmesser jedes Schenkels mißt etwa 3 cm und die Höhe 9 cm; dessen Inhalt umfaßt etwa 80 bis 100 cc. Man kann aber je nach dem Zweck einen Doppelzylinder von beliebiger Größe und Gestalt herstellen lassen; jedoch halte ich die eben angegebene Form und Größe für den gewöhnlichen Gebrauch am geeignetsten und handlichsten. Diesen Glaszylinder kann jede Fabrik von Glasgegenständen sehr leicht für ganz billigen Preis herstellen.

Der Ablaufschenkel hat ferner ungefähr 6 mm von dem oberen Rande entfernt an der entgegengerichteten Seite ein nach abwärts gekrümmtes Ablaufrohr. Dasselbe wird bei dem Gebrauch noch durch einen kurzen Gummischlauch mit einem geknickten, in der Spitze in ein feines Kapillar ausgezogenen Glasstück (*A*) verbunden.

Der Glaskolben (*K*) dient als Füllflasche, indem man ihm umgekehrt nach bekannter Weise bei der Konstanthaltung des Niveaus im Wasserbade montiert. Man steckt nämlich durch den Gummistöpsel des Kolbens zwei ungleich lange, dünne Glasröhren, so daß das längere Rohr bei der Herabsetzung des Niveaus die Luft führt, das andere kürzere läßt den Inhalt des Kolbens abfließen. Ferner muß das längere Rohr so eingestellt sein, sobald der Stand des Niveaus die gewünschte Höhe erreicht hat, daß es durch die herabgeflossene Flüssigkeit dem Lumen derselben zugemacht wird. Dadurch wird das Niveau stets in einer konstanten Höhe gehalten.

Zum Gebrauch des Apparates stopft man das U-förmige Verbindungsstück (*W*) ziemlich fest mit entfetteter Watte; außerdem füllt man den Boden (*S*) des Ablaufschenkels (*G 2*) mit dem mehrfach gefalteten Gazestück oder mit der Watte (auch Glaswolle) aus; ich bediene mich dafür des mit konzentrierter Salzsäure begossenen und nachher gut gewaschenen feinen Sandes, darauf noch eine dünne

Schicht von Gaze oder Fließpapier. Diese Sandschicht beträgt ungefähr 1 cm. Je nach der Dichtigkeit von *W* und *S* wird die Strömung der Flüssigkeit resp. des Alkohols aus dem *G 1* in *G 2* beträchtlich beeinflußt; durch die Verlangsamung derselben wird die möglichst gleichmäßige Verteilung des zufließenden Alkohols erzielt. Zugleich dient die Ausfüllungsmasse auch als Filter.



1.

Jetzt füllt man den Doppelzylinder mit destilliertem Wasser oder gleich mit 50prozentigem Alkohol, falls das Objekt schon durch die Fixation ziemlich die Härte gewonnen hat; man legt das Objekt (*M*) zur Entwässerung oder Härtung in den Ablaufschenkel (*G 2*) hinein. Die Füllflasche (*K*), welche vorher mit 50- resp. 70prozentigem Alkohol gefüllt ist, mit ihren beiden Glasröhren umgekehrt, steckt man in den Zuflußschenkel (*G 1*) hinein und man stellt das Niveau des letzten so ein, daß, wenn das Niveau in die Linie *b* mit herabsteigt, der Alkohol aus der Füllflache herunterfließt und, sobald er die Linie *c* erreicht hat, das Luftrohr zugemacht wird. Ich habe dabei den Stand des Luftrohrs so berechnet, daß es sich

zuschließt, nachdem vom Alkohol ungefähr 10 cc herausgeflossen sind; d. h. wenn die Höhe des unteren Endes des Luftrohrs ungefähr 1 cm höher als das des Ablaufrohrs des *G 2* sich befindet.

Aber das kann man durch Hin- und Herschieben des Luftrohrs beliebig ändern. Unter Umständen ist es besser, daß das Niveau des Zuflußschenkels noch etwas höher steht, besonders in dem Moment, wo der Widerstand in *W* und *S* zunimmt.

Endlich muß ich kurz berichten über die Eigenschaft und den Zweck des Kapillarstückes (*A*). Man ziehe selber das dünne Glasrohr in der Spiritus- oder Gasflamme fein aus und verfertige mehrere Stücke von verschiedener Dicke an; dann versuche man die Geschwindigkeit des Abtropfens des Alkohols durch dieselben und suche diejenigen, welche in einer Minute ungefähr 0·5 bis 1·0 cc abtropfen lassen, heraus und halte sie vorrätig. Wenn das Kapillarstück zu fein ist, verstopft sich das Lumen desselben jedoch sehr leicht durch die vorangehende Verdunstung und Austrocknung des herabtropfenden Alkohols.

Der Gang der Vorrichtung ist wie folgt: Steigt das Niveau des Ablaufschenkels *G 2* durch das fortwährende Abtropfen aus dem Kapillarstück *A* in die Linie *b* herab, so muß das Niveau des Zuflußschenkels *G 1* natürlicherweise auch herabsinken. Aus der Notwendigkeit zur Erhaltung des Niveaus in der Linie *c* im *G 1* fließt der Alkohol aus der Füllflasche *K* in denselben herunter; indem der Alkohol mit gewissem Druck herausgeschossen wird, kommt hierbei eine Wirbelbewegung der Flüssigkeit zustande. Gerade dieser Moment wirkt als eine automatische Durchmischungsvorrichtung im *G 1*; dadurch kommt im Augenblick des Hineinfließens sofort eine gleichmäßigen Durchmischung mit Wasser oder Alkohol von wenig dünner Konzentration zustande. Ferner nimmt mit diesem Akt die Konzentration des Alkohols in *G 1* in geringerem Grade zu. Zur Ausgleichung des Niveaus als auch der Konzentration muß der Inhalt des Zuflußschenkels *G 1* durch die Schicht von Watte und Sand (*W* und *S*) in *G 2* zuströmen; dabei leisten jedoch die genannten Schichten den Widerstand gegen rasche Ausgleichung. Es ist gerade sehr wünschenswert, wenn das Zufließen nach *G 2* beträchtlich verzögert wird, damit möglichst sukzessiverweise die Steigerung des Alkoholgehaltes in *G 2* erzielt wird, und zwar je mehr der Widerstand in *W* und *S* zunimmt, desto langsamer fließt der Alkohol in *G 2* und weniger steigt die Konzentration in demselben auf. Durch diese Einschaltung des Widerstandes in *W* und *S* kann man die Strom-

geschwindigkeit von *G 1* nach *G 2* beliebig regulieren und die stürmische Steigerung des Alkoholgehaltes vermeiden, deren Folge eine starke Diffusionsströmung zwischen dem Objekte und der umgebenden Flüssigkeit und die schädliche schrumpfende Einwirkung an dem zarten Objekte verursachen. Es ist hierbei auch wohl zu bedenken, daß der zufließende Alkohol aus *G 1* in *G 2* spezifisch viel leichter ist, als der Inhalt des *G 2* selbst und wenn die Strecke von *W* und *S* leicht durchgängig sein werde, steigt der Inhalt von starker Konzentration schnell in die Höhe auf, so daß in G 2 zwei, deren eine die obere alkoholreichere und deren andere die untere alkoholärmere Schicht entstehen werden; dann fließt bloß die obere leichtere gleich fort und es tritt keine gewünschte Durchmischung des Alkohols, somit keine allmählich steigende Konzentration auf. Um dieses Mißlingen zu kontrollieren, mache man vor dem Gebrauch der Vorrichtung etwa mit altem gefärbtem Alkohol von einem bekannten Prozentsatz den Vorversuch des Prozesses, ob der gefärbte Alkohol in dem ungefärbten Inhalt des *G 2* gleichmäßig verteilt ist oder ob er bald eine gesonderte obere Schicht bildet. Wenn das letztere der Fall ist, so ist es ein Zeichen, daß die Strecke *W* und *S* leicht durchgängig ist; demgemäß muß man die Watte noch fester verstopfen und die Sand- bzw. Gazeschicht dicker machen, bis die gewünschte Erscheinung sicher auftritt.

Inzwischen tropft der Inhalt des *G 2* aus dem Kapillarstück fortwährend heraus und es findet sich wiederum hier die Herabsetzung des Niveaus; jetzt fließt nun der Alkohol aus der Füllflasche in *G 1*. So wiederholt sich der Gang ununterbrochen automatisch, bis die Füllflasche ganz leer wird; dadurch steigt der Alkoholgehalt der beiden Schenkelteile des Doppelzylinders allmählich auf.

Aus der folgenden Voraussetzung z. B., daß das Kapillarstück in der Minute 0·5 cc abfließen läßt, daß bei jedesmaliger Niveauausgleichung Alkohol von 10 cc aus der Füllflasche herausfließt, ferner daß die beiden Schenkel *G 1* und *G 2* je 40 cc Flüssigkeit enthalten, kann man folgende Rechnung aufstellen und somit ungefähr die Leistungsfähigkeit des Apparates beurteilen:

Bei der ersten Füllung, wenn man den Inhalt des Doppelzylinders als destilliertes Wasser und den der Füllflasche als 50prozentigen Alkohol annimmt, wird der Inhalt des *G 1*: 40 cc Wasser + 10 cc 50prozentiger Alkohol, das macht $50 : 5 = 100 : x = 10$ Prozent Alkohol; dies fließt allmählich in *G 2*. Nach 20 Minuten kommt

die zweite Füllung: 40 cc 10prozentiger Alkohol + 10 cc 50prozentiger Alkohol = 50 : 9 = 100 : x = 18 Prozent Alkohol in *G 1*.

Bei 3.	Füllung	in	*G 1*	=	24·4	Prozent
„ 4.	„	„	„	=	29·5	„
„ 5.	„	„	„	=	33·6	„
„ 6.	„	„	„	=	36·8	„
„ 7.	„	„	„	=	39·4	„
„ 8.	„	„	„	=	41·5	„
„ 9.	„	„	„	=	43·2	„
„ 10.	„	„	„	=	44·5	„
„ 11.	„	„	„	=	45·6	„
„ 12.	„	„	„	=	46·4	„
„ 13.	„	„	„	=	47·1	„
„ 14.	„	„	„	=	47·6	„
„ 15.	„	„	„	=	48·0	„
„ 16.	„	„	„	=	48·4	„
„ 17.	„	„	„	=	48·7	„
„ 18.	„	„	„	=	48·9	„
„ 19.	„	„	„	=	49·1	„
„ 20.	„	„	„	=	49·2	„

Aus dieser Rechnung ergibt es sich, daß nach Ablauf von 400 Minuten also beinahe von 7 Stunden 200 cc von 50prozentigem Alkohol verbraucht worden ist. Wenn man hierbei den Widerstand in *W* und *S* in Rücksicht nimmt, muß der Zeitdauer des Abfließens noch vielmals protrahieren; zugleich ist zu bemerken, daß der Alkoholgehalt im *G 2* etwas niedriger ist als im *G 1*. Füllt man die Füllflasche mit 300 cc von 50prozentigem Alkohol, genügt es vollkommen, den ganzen Inhalt des Doppelzylinders auf 50 Prozent zu halten.

Nachdem die Füllflasche leer geworden ist, füllt man sie jetzt mit 70-, 80- bis 85-, 90- bis 95prozentigen Alkohol. Endlich aus dem 95prozentigen Alkohol legt man gleich in absolutem Alkohol, oder will man vorsichtig sein, so kann man auch die Flasche zum letzten Male mit dem absoluten Alkohol ausfüllen. Den abtropfenden Alkohol sammelt man in einer Flasche und kann ihn zu anderen Zwecken wie zum Brennen usw. verwenden.

Also bei der ganzen Prozedur genügt eine viermalige Füllung. Ferner ist die Handhabung äußerst einfach; wenn man einmal den Apparat gut eingestellt hat, geht es zum Teil automatisch vor sich.

Ist es gestört während der Ausführung den Standort des Apparates zu besuchen, oder ist die Füllflasche jedoch schon leer geworden, so braucht man nicht ängstlich zu sein; das Objekt ist vollkommen vor dem Austrocknen geschützt, wenn man vorher den Apparat etwa mit einer Glasplatte gut zugedeckt hat.



2.

Für diejenigen Objekte, welche in osmiumhaltigen Mitteln fixiert sind, gilt diese Entwässerungsart zugleich auch als Auswaschung. Da der Alkohol stets in der erneuerten Zirkulation gesetzt wird, wird der etwa zurückbleibende Osmiumteil mit der Zeit vollkommen extrahiert; sodann ist das Nachdunkeln des Alkohols ganz ausgeschlossen, was man sehr häufig erfährt, obgleich man sehr ausgiebig ausgewaschen hat.

II. Auswaschungsvorrichtung.

Besonders bei der Auswaschung mit dem Wasser ist die Sache noch viel einfacher als bei dem Entwässerungsprozeß. Man entfernt zu diesem Zweck sowohl das Kapillarstück als auch die Watte- und Sandschicht und stopft ganz lose die Öffnung im Boden des *G 1* mit etwas Gaze oder Watte zu. Indem man die Mündung des Wasserleitungshahnes mit einem dünnen Gummischlauch verbunden hat, läßt man das Wasser in das *G 1* hineinfließen und es füllt dann durch die Gaze oder Watte bald den anderen Schenkel *G 2* voll; diese Watteschicht dient zugleich als Filter für etwaige Verunreinigung des Leitungswassers, wie Eisenrost. Das fixierte Organstück oder die mit Schnitten aufgeklebten Objektträger oder auch gefärbten Schnitte usw. kommen in *G 2* und sobald das letztere sich voll ausfüllt, läuft das Wasser aus dem Ablaufrohr desselben ab. Keinesfalls entsteht hierbei heftige Wasserströmung, was bei dem Auswaschen der mit Schnitte behafteten Objektträger die Schnitte manchmal fortreißt und gerade sehr zu befürchten ist; das Wasser kommt nämlich durch Gaze- oder Watteschicht hindurch, sozusagen durchsickernd in das *G 2*. Ferner bei der Ausführung des Auswaschungsprozesses ist die Angst der plötzlich auftretenden Druckschwankung des Leitungswassers oder des unerwarteten Aufhörens desselben ganz ausgeschlossen, da das Ablaufrohr des *G 2* sehr hoch steht und die Anwendung der Heberwirkung ganz vermieden ist, ferner der Zuflußschenkel *G 1* als Reservoir dient, bleibt das Objekt stets unter Wasser und es kommt bei dem Apparat die vollständige Entleerung des Wassers niemals zustande.

Bei der Auswaschung der Schnitte aus der alkoholischen Farblösung ist zu bemerken, daß man das Ablaufrohr etwas mit Watte verstopft oder die Schnitte mit dem Papierstück bedeckt, damit in der ersten Zeit die Schnitte nicht fortgeschwemmt werden dürfen.

Bei der Auswaschung mit Alkohol wechselt man das Kapillarstück (*A*) für die Entwässerung mit einer etwas dickeren Nummer, damit der Alkohol etwas schneller ablaufen kann, und man entfernt wie bei der mit Wasser auch die Watte- und Sandschicht (*W* und *S*). Was die Füllflasche und die weitere Manipulation anbetrifft, ist es ganz dasselbe wie bei dem Entwässerungsprozesse. Man füllt den Kolben (*K*) mit Alkohol von bestimmtem Prozentsatz (etwa 80 Prozent), läßt in *G 1* herabfließen, und wenn die Füllflasche ganz leer ge-

worden ist, füllt man weiter mit demselben Alkohol nach, so lange der Prozeß dauert und bis das Auswaschen vollendet ist. Diese Art der Auswaschung ist besonders bei den mit Pikrinsäure behandelten Objekten sehr zu empfehlen, wo die Pikrinsäure hartnäckig am Objekte haften bleibt. Damit erspart man auch Alkohol beträchtlicher als bei dem bloßen Abwaschen derselben.

[Eingegangen am 4. April 1909.]

Verwendung des Edingerschen Zeichen- und Projektionsapparates zur makroskopischen Photographie.

Von

Prof. Dr. Paul Martin
in Gießen (Universität).

Hierzu zwei Textabbildungen.

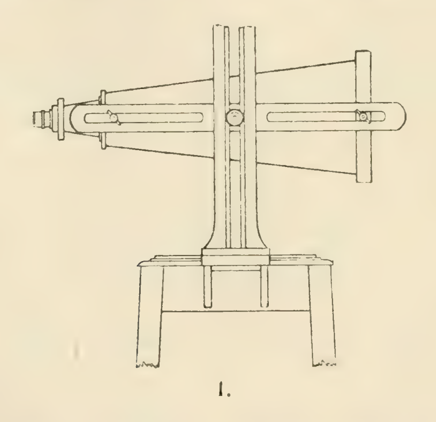
Die Neukonstruktion des Edingerschen Zeichen- und Projektionsapparates gestattet eine außerordentlich vielseitige Verwendung desselben nicht nur zum mikroskopischen Zeichnen, Photographieren und Projizieren, sowie zur Projektion von Diapositiven, sondern auch zur makroskopischen Photographie. Die horizontale Verstellbarkeit der Schiene, auf welcher die optischen Teile befestigt sind, ermöglicht nicht allein mikroskopische und photographische Bilder an die Wand zu werfen, sondern man kann auch bei Einspannen der photographischen Camera an Stelle der optischen Teile makroskopische Gegenstände aus größerer Entfernung aufnehmen. Der Bequemlichkeit halber und um die Camera auch in horizontaler Stellung nötigenfalls bis auf 90 cm ausziehen zu können, hat mir die Firma Leitz eine Gleitschiene angefertigt, welche die Camera trägt und auf der Rückseite der Hauptgleitschiene des Apparates verschieblich befestigt wird, so daß man die auf der Vorderseite befindlichen

optischen Teile nicht erst entfernen muß, um photographieren zu können (Fig. 1).

Diese, der Leichtigkeit wegen, aus Holz gefertigte Schiene ist wie die optische Bankschiene in senkrechter Richtung um ihre Befestigungsachse drehbar, so daß man nicht nur Aufnahmen in horizontaler, sondern in allen möglichen anderen Richtungen machen kann.

Als besonders wertvoll hat sich aber die Verwendung der Camera in senkrechter Stellung an verlängerten (75 cm langen) Armen erwiesen, welche an der senkrechten Hauptgleitschiene befestigt werden (Fig. 2).

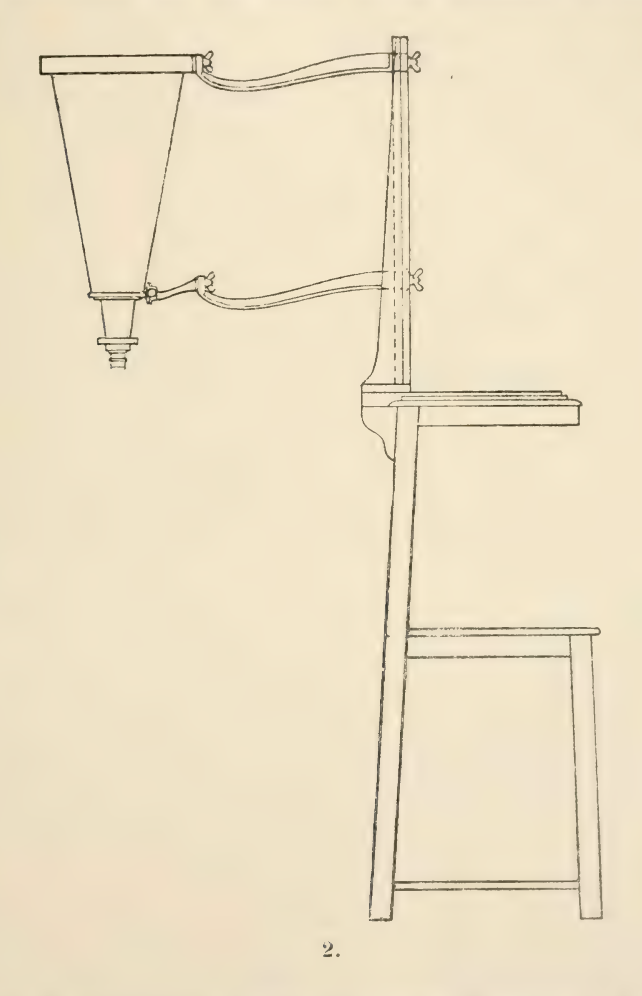
Man kann in dieser Weise umfangreiche Präparate, z. B. eine ganze Beckengliedmasse vom Pferd oder einen großen Uterus mit



1.

Eihäuten und deren Inhalt in liegender Stellung am Boden oder in erhöhter Lage photographieren, ohne daß etwas aus seiner Schwergewichtsstellung verschoben wird. Als besonders geeignet hat sich für diese Art von Aufnahmen der Periplan von Leitz 240 mm Brennweite erwiesen. Man bekommt damit schön ausgezeichnete Bilder bis zum Format der Camera (24 × 30 cm). Gelegentlich verwende ich auch Objektive von 180 und 150 mm Brennweite. Die leichte Beweglichkeit des ganzen Apparates auf rollenden Kugeln gestattet Aufnahmen mit demselben in den verschiedenen Institutsräumen und ich glaube, daß er sich auch am Krankenbette bewähren wird, was die Vielseitigkeit seiner Verwendung noch vermehrt. Um bei der erhöhten Lage der Mattscheibe richtig einstellen zu können, benutze ich einen auf einen Tisch gestellten kräftigen Stuhl.

Die verlängerten Arme der Camera kommen mir außerdem bei Aufnahmen sehr großer Präparate, z. B. eines ganzen Pferdekadavers zustatten. Ich befestige zu diesem Zwecke die Camera mittels einer besonderen, an der Galerie meines Hörsaales angebrachten



2.

Schiene in senkrechter Stellung und fahre das Präparat auf einem Wagen darunter, bin also nicht genötigt, dieses für die Aufnahme erst künstlich in eine senkrechte oder schiefe Stellung zu bringen.

Zwecks Erzielung der richtigen Beleuchtung hat mir die Firma Leitz in Wetzlar mit Stanniol belegte, verstellbare Licht- bzw. Reflex-

schirme angefertigt, welche sich sehr gut bewähren. Ob man die Präparate bei der Aufnahme frei, d. h. in der Luft liegen lassen will oder in Wasser untertaucht, richtet sich nach den jeweiligen Verhältnissen. Für Wasseraufnahmen bediene ich mich eines großen, mit Zinkblech ausgeschlagenen Kastens, in welchen zur Erzielung eines entsprechend gefärbten Untergrundes ein weißes oder schwarzes Wachstuch gelegt wird. Gut ist es, um Schattenbildung zu vermeiden, wenn die Vorderwand des Kastens aus Glas angefertigt ist, oder wenn man die Aufnahme unter freiem Himmel macht, so daß keine starke einseitige Beleuchtung stattfindet. Luftaufnahmen werden bedeutend härter als Wasseraufnahmen und geben sehr scharfe, manchmal störende Reflexlichter, die allerdings durch Verstellen einer mit Pauspapier bespannten Rahme gedämpft werden können. Bei Wasseraufnahmen hingegen muß man die Reflexschirme vorsichtig aufstellen, da sonst ihr Spiegelbild mit auf das Negativ kommt. Stark blutig bzw. dunkelfleischrot gefärbte Präparate werden am besten einige Tage in Wasser oder schwacher Formollösung ausgezogen.

Zur mikroskopischen Projektion in der Horizontalstellung verwende ich den Apparat ständig im Kursus. Ich habe mir zu diesem Zwecke eine geeignete Ecke in meinem Mikroskopiersaal durch starke, schwarze Leinwandvorhänge abdunkeln lassen und erkläre jeweilen den Studenten, von denen bequem 25 bis 30 zuschauen können, das eben ausgeteilte Präparat. Die Abdunkelung durch die Vorhänge ist durch die Anbringung von Randleisten an den Vorhangenden vollkommen genügend und das wenige noch einfallende Licht stört in keiner Weise. Ein Abzugschacht in dem Dunkelraum verhindert das Schlechtwerden der Luft durch die Verbrennungsprodukte der Kohle.

[Eingegangen am 24. Juni 1909.]

La Méthode rotative en Microscopie.

Par

Dr Hector Lebrun,

Conservateur au Musée Royal d'Histoire naturelle de Bruxelles.

Avec 13 illustrations.

Depuis que j'ai publié[1], il y a deux ans, l'esquisse d'une méthode nouvelle que j'ai adoptée pour l'arrangement et l'examen des objets microscopiques sur des porte-objets en forme de disques, je me suis efforcé de réaliser les instruments nécessaires à l'emploi de cette méthode, de manière que ceux qui en comprennent les avantages puissent l'introduire dans la pratique microscopique. Ces instruments se trouvant actuellement dans le commerce je crois utile de revenir de nouveau sur le même sujet et de donner aux débutants quelques conseils pratiques sur leur emploi en démontrant à nouveau l'utilité et l'économie.

Depuis bientôt trois ans que je les emploie d'une manière continue au laboratoire, je me convaincs tous les jours de plus en plus, qu'ils me font gagner beaucoup de temps, en même temps que je réduis les dépenses de mon budget.

J'ai en outre introduit depuis lors des modifications importantes aux premiers instruments figurés dans mon mémoire de 1906, qui doivent être décrites et expliquées pour qu'on en comprenne le fonctionnement.

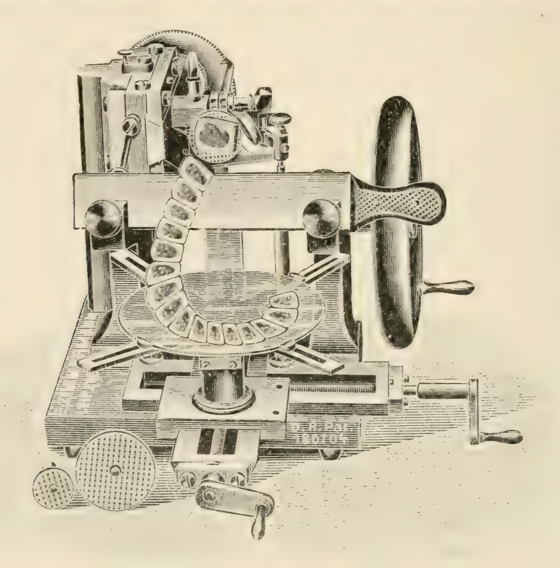
Microtome.

Une modification assez importante a été apportée au porte-couteau. Sur l'instrument que j'ai d'abord figuré, les branches horizontales qui supportent le couteau étaient fixées aux supports qui

[1]) Lebrun, H., Application de la méthode des disques rotatifs à la technique microscopique (Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie u. mikrosk. Technik Bd. XXIII, 1906, p. 145—193).

soutiennent d'une part la roue motrice, d'autre part la glissière du chariot.

J'obtenais avec l'appareil ainsi modifié des coupes irréprochables de 4 à 5 microns d'épaisseur et au-dessus; mais les coupes de 1 et 2 μ étaient obtenues d'une manière plus irrégulière, à cause des trépidations légères que le support subissait pendant la rotation de la roue et le déplacement du chariot. Pour remédier à cet inconvénient, le porte-couteau a été monté sur une pièce détachable et



1.

indépendante, qui se fixe à la face supérieure de la table du microtome, et n'a aucun rapport immédiat, ni contact avec les parties de l'instrument susceptibles de trépidation (fig. 1).

Le microtome primitif avait été construit pour utiliser les disques troués au centre. Ils étaient placés sous le couteau, sur un plateau portant en son milieu un bouton en cuivre, qui servait d'axe de rotation. Ayant renoncé, pour des raisons d'économie à l'emploi des disques troués au centre, pour utiliser quand je fais des préparations permanentes, les disques sans ouverture centrale, j'ai dû nécessairement modifier le support, et j'ai remplacé le plateau par une croix métallique à branches égales, fixée à son centre par une vis, à l'axe du support.

Chacune des branches de la croix est percée d'une fente longitudinale dans laquelle court une petite pièce mobile munie d'une vis à pression; cette petite pièce peut donc s'éloigner aux extrémités de la branche de la croix pour les disques de grande dimension, ou se rapprocher du centre pour les plus petits.

Comme il y a intérêt évident à aller chercher le ruban des coupes aussitôt qu'il dépasse le bord inférieur du couteau, pour fixer la première coupe sur le disque, nous avons modifié le support-axe qui porte la croix et le disque. L'axe est formé par un cylindre creux dans lequel glisse une tige pleine sur laquelle la croix et le disque sont fixés, on peut l'abaisser ou l'élever au moyen d'un pignon et d'une crémaillière.

Sitôt donc que la première coupe du ruban dépasse le bord inférieur, le dos, du couteau, on élève le disque jusqu'à ce niveau, et on l'abaisse au fur et à mesure que le ruban s'allonge, jusqu'à un niveau convenable pour permettre le mouvement de rotation du disque.

Beaucoup de personnes qui verront les photogrammes qui illustrent cet article, se figureront que pour arriver à ce résultat, il est nécessaire d'avoir une longue habitude de l'appareil, et qu'il est extrêment difficile d'obtenir de pareiles préparations.

Certains m'ont objecté que l'appareil était concevable pour de grandes coupes, et non pour de petits objets; c'est une erreur complète, plus la coupe est petite et plus facile est l'enroulement du ruban en spirale.

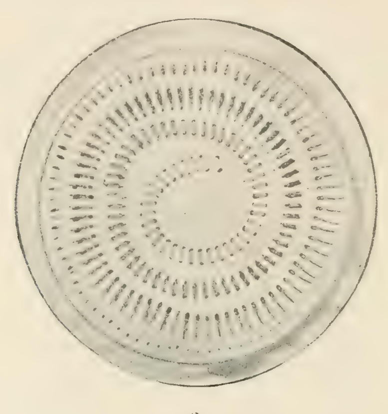
D'autres m'ont dit que la méthode pouvait être bonne pour l'embryologie, mais inutilisable pour la cytologie. Les photogrammes des figures 2, 3, 4 répondront à ces objections.

En vue d'épargner à ceux qui tenteront l'application de la méthode des tâtonnements indispensables dans toute periode d'essai, et leur faciliter le plus possible la réussite des préparations, je vais indiquer ci-après dans les moindres détails, la manière de procéder à laquelle je me suis arrêté après deux ans de pratique.

Le microtome est placé sur le coin droit ou gauche de la table de travail, cela est indifférent, la roue motrice regardant l'opérateur. Dans cette position la main droite imprime le mouvement de rotation à la roue, tandis que la main gauche dirige le ruban qui se forme sur le couteau, vers le disque porte-objet.

La main gauche est armée d'une aiguille ou d'un fin scalpel.

Une cuvette remplie d'eau distillée, maintenue à une température de 25 à 30 degrés centigrades, est à proximité de la main gauche avec une pipette, afin de pouvoir ajouter de l'eau goutte à goutte,



2.

Embryon de Salamandre en coupes longitudinales.



3.

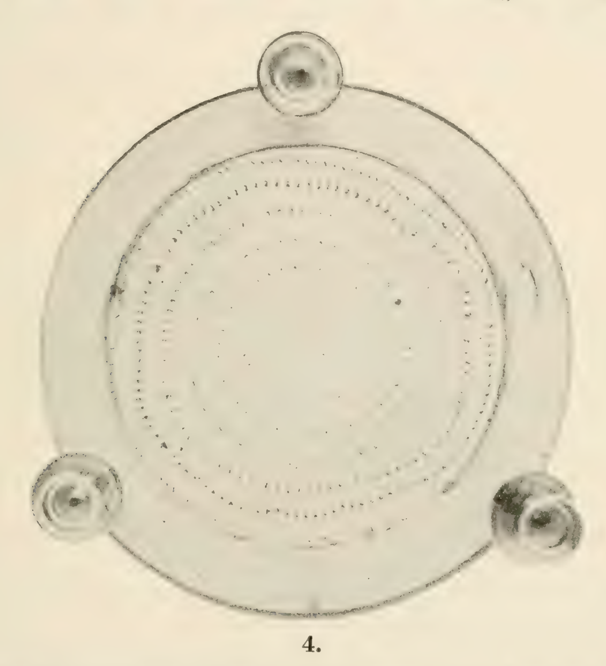
Embryon de Salamandre en coupes transversales.

sur le disque. La table et le microtome devront se trouver dans un plan absolument horizontal, et équilibré au niveau d'eau.

Une opération préalable de grande importance pour la réussite de la préparation consiste à donner dès le début une forme définitive et exacte au bloc de paraffine et à le tailler de manière que

le ruban des coupes ne soit pas rectiligne comme dans l'ancienne méthode, mais s'incurve régulièrement en s'adaptant à la courbure du disque. La surface de section du bloc de paraffine ne sera donc pas rectangulaire, mais elle aura la forme d'un trapèze dont le rapport des cotés non parallèles variera suivant la dimension de l'objet et suivant le rayon de courbure du disque employé.

Nous employons des disques de plusieurs dimensions qui nous ont été fournis par la maison Hellige de Fribourg en Brisgau.



4.

Photographie d'une ponte d'œufs de Mollusques. Voir à la fin de l'article avant le Résumé.

Afin de donner au bloc de paraffine une forme mathématiquement exacte, nous avons tracé sur un carton trois cercles concentriques, et un grand nombre de rayons qui les divisent en secteurs de dimensions très variables. Quand le bloc de paraffine est à peu près dégrossi, nous le plaçons par une de ses faces à l'intérieur du cercle correspondant à la dimension du disque employé. On choisit naturellement le disque en proportion de la dimension de l'objet et l'on s'efforce de placer sur le même toutes les coupes du même objet. Le bloc est donc déposé le long d'un rayon du cercle, et

au moyen d'un scalpel bien tranchant, nous taillons les deux faces parallèles en nous guidant sur les rayons de l'étalon en carton, pour obtenir un trapézoïde à deux faces égales.

L'objet étant fixé sur le microtome, deux cas peuvent se présenter, suivant que l'on voudra commencer l'enroulement du ruban en spirale à partir du centre vers la périphérie du disque, ou bien en commençant à la périphérie pour arriver au centre.

Si nous faisons des coupes à travers le trapézoïde dont les deux faces opposées seraient égales en dimension, les premières coupes seraient égales aux dernières et nous formerions simplement des rubans qui se déposeraient en cercle, mais non en spirale.

Pour arriver à obtenir que les coupes s'enroulent en spirale, il faut que les surfaces de section opposées du trapézoïde soient inégales et changent insensiblement de dimensions au fur et à mesure que l'on s'approche ou que l'on s'éloigne du centre.

Si l'opérateur veut enrouler son ruban en commençant à la périphérie pour terminer au centre du disque, la face de section du bloc de paraffine devra aller en augmentant insensiblement au fur et à mesure que la spire s'approchera du centre du disque.

Dans le second cas si l'opérateur veut commencer sa spirale au centre du disque pour la terminer à la périphérie, la surface de section du trapézoïde devra aller progressivement en diminuant d'une manière insensible depuis la première jusqu'à la dernière coupe.

Il faudra donc tailler une des faces du trapézoïde de façon à obtenir que les deux surfaces de section, la première et la dernière, soient inégales. Ce résultat est obtenu en tronquant le trapézoïde sur l'une des faces latérales.

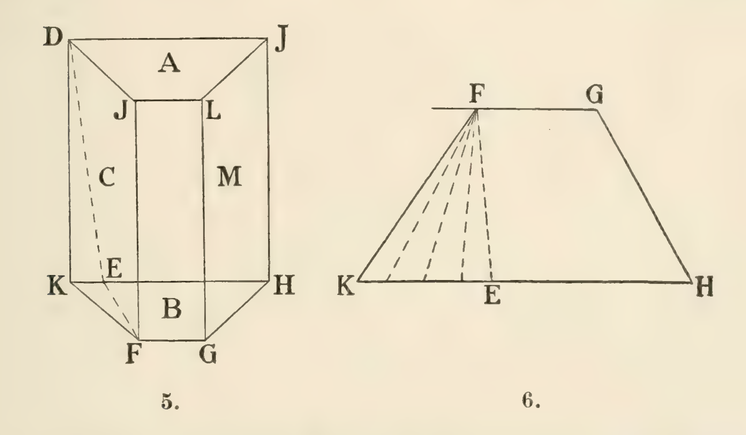
Nous avons représenté dans les figures 5 et 6 un trapézoïde dont les deux faces c et M ont été taillées suivant deux rayons du disque porte-objet, à une distance peu éloignée du centre. Les coupes qui passeront par le plan $DIJL$ formeraient en s'accolant un ruban en forme d'anneau. Si l'on veut enrouler ce ruban en spirale, il faudra donc commencer par le centre du disque et tronquer le bloc suivant la ligne $DEFK$ de manière à obtenir à la fin de la série, des coupes qui passeront insensiblement de la forme $FGHK$ à la forme $FEHG$.

Les dernières coupes obtenues formeront en s'accolant un cercle beaucoup plus grand au fur et à mesure que l'on s'approchera de la circonférence du disque.

Si l'on veut commencer l'arrangement des coupes par la périphérie il faudra faire les premières coupes en passant par la face B suivant $FEHG$ pour terminer par la face A.

En règle générale je préfère commencer l'arrangement en débutant à la périphérie.

Voici donc le bloc de paraffine taillé et collé sur le microtome. Il n'est pas indifférent de le présenter au tranchant du couteau de manière que l'une des faces du trapézoïde soit ou ne soit pas parallèle au fil du couteau. Une seule des 2 faces peut être parallèle au fil du couteau. Laquelle est-il préférable d'orienter suivant cette direction? Celle qui arrive la première en contact avec le couteau,



5. 6.

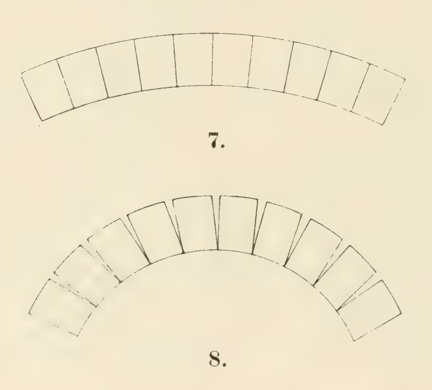
ou bien l'autre, la postérieure? Il est préférable que ce soit la postérieure, car de cette façon la coupe reste fixée beaucoup mieux sur le couteau et se déplace d'une manière beaucoup plus régulière sous la poussée de la coupe suivante.

Le bloc étant fixé en bonne position la série commence à s'étaler d'abord sur le rasoir. On surveille avec l'aiguille ou le scalpel que le ruban ne s'enroule pas et ne subisse pas de torsion sur lui-même et on le conduit pour l'appliquer à la périphérie du disque, que l'on a préalablement enduit d'une couche très mince d'albumine de Mayer, et recouvert d'une nappe d'eau tiède.

Si le bloc de paraffine n'est pas bien taillé, il survient deux possibilités; le ruban s'incurve trop, ou bien pas assez, il est alors ou trop courbe ou trop droit. Il ne faut pas s'en effrayer ni se décourager, il y a remède à la situation.

Si le ruban est tout droit ou trop droit on peut l'incurver aisément en détachant les coupes les unes des autres sur la face externe du ruban (fig. 7 et 8). Elles restent suffisamment adhérentes du côté interne pour maintenir la continuité du ruban. On a alors le temps de corriger avec un scalpel droit la surface de section du bloc de paraffine de façon à donner au ruban une incurvation plus accentuée.

Dans l'autre possibilité, le ruban est trop incurvé, et ne suit pas la périphérie du disque, et gagne au contraire la partie centrale d'une manière trop rapide. On procède alors d'une manière contraire c'est-à-dire qu'on écarte les coupes du côté interne en les laissant adhérentes sur le côté externe du ruban.



7.

8.

On obtient encore le même résultat en enlevant dans quelques coupes des segments de paraffine avec un scalpel courbe bien tranchant. On procède de la manière suivante si toutefois les coupes sont suffisamment larges et si on a laissé une quantité suffisante de paraffine autour de l'objet. On enlève une série de coins, ce qui est très aisé, et on rapproche les unes des autres les coupes ainsi modifiées. Ce sont là des petis accidents qui arrivent au début, et il est important d'y remédier aussitôt qu'on s'en aperçoit.

Pour redresser un ruban dont l'incurvation serait trop forte, on emploie le même procédé mais en sens contraire (fig. 9 et 10).

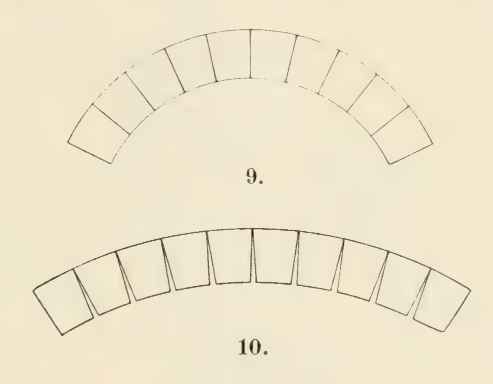
Avec un peu de patience et après un apprentissage très court on parvient aisément à donner dès le début la forme définitive au bloc de paraffine, et alors les opérations sont faciles, rapides et simples.

Le ruban se dépose le plus souvent de lui-même sur le disque, et y est attiré par la capillarité de l'eau qui y est déposée.

Au fur et à mesure que le ruban se forme sur le couteau, on entraîne le disque lentement avec la main gauche en suivant du regard l'endroit où les coupes se déposent.

Au moyen des deux chariots perpendiculaires on peut les suivre dans tous les déplacements et les ramener à l'endroit convenable quand elles s'en écartent.

Il est préférable d'épuiser toutes les tentatives en se servant des chariots plutôt que d'intervenir avec les aiguilles ou un fin scalpel, afin de faire adhérer les coupes sur le disque; car on risquerait alors de piquer la paraffine et par un mouvement trop brusque d'interrompre ainsi la continuité du ruban ce qui est toujours un contretemps fâcheux. Quand le disque est rempli de coupes, on lui



9.

10.

donne alors sa forme définitive, en corrigeant les défauts de la spirale, en donnant au ruban une incurvation régulière, en collant les coupes qui ne sont pas encore adhérentes, et en les étalant.

On peut resserrer le ruban vers le centre, ou l'élargir à volonté, mais pour réussir ces opérations, il est nécessaire de laisser sur le disque une quantité d'eau strictement suffisante; car si la couche d'eau était trop abondante, le ruban surnagerait tout entier à sa surface et les corrections sont alors très difficiles. Au contraire, si la couche d'eau est seulement suffisante pour humecter la surface, les coupes et le ruban glissent sur le verre avec la plus grande facilité et l'on parvient aisément à déplacer n'importe quelle partie du ruban soit vers le centre soit vers la périphérie en suivant la ligne spiralée.

Quand on a donné au ruban sa forme définitive, après y avoir apporté toutes les corrections nécessaires, on laisse s'écouler l'eau

qui est encore en excès, en inclinant le disque, et on laisse sécher 10 à 12 heures.

La paraffine est fondue à la flamme, et on procède aux autres manipulations, mise sous couvre-objet, colorations, etc.

Je me sers dans ce but, pour mettre les divers liquides, de plaques de Petri à bord rodé, en usage dans les laboratoires de bactériologie.

La mise sous verre demande naturellement quelques précautions particulières, surtout s'il s'agit de couvre-objets, de grande dimension, car le gros écueil à éviter comme toujours d'ailleurs c'est d'emprisonner des bulles d'air.

Comme milieu je conseille particulièrement l'Euparal quand je veux éviter l'alcool absolu, et la colophane en solution dans la Benzine pour les objets qui doivent être entièrement deshydratés.

Je laisse tomber une grosse goutte de résine, d'une part sur le côté gauche de la préparation, et d'autre part sur le côté droit du couvre-objet.

Ce dernier est retourné brusquement et placé par son bord gauche, sur le bord gauche du disque. Avec une pince, ou bien une aiguille on le maintient en place sans appuyer sur sa face supérieure, empêchant seulement son glissement en dehors de la préparation. Avec la main droite armée d'une aiguille on soutient le couvre-objet par sa face inférieure du côté droit, tandis que le bord gauche est déjà déposé sur le disque.

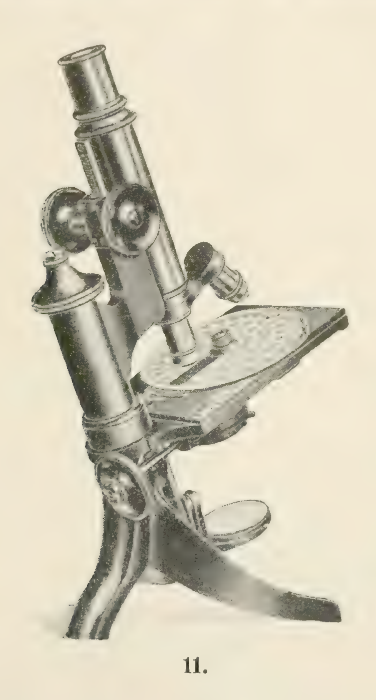
La résine si elle est suffisamment liquide, glisse presque tout entière dans l'angle ainsi formé à gauche, et alors on abaisse lentement le bord droit du couvre-objet, en ayant soin de surveiller la répartition régulière de la résine. Si par hasard une bulle d'air reste incluse au sein de la résine, on relève doucement le couvre-objet jusqu'à ce que la bulle ait disparu.

Il faut donc éviter surtout de laisser retomber le couvre-objet d'une manière trop rapide, car il inclurait fatalement alors une très grande quantité de bulle d'air dans la substance résineuse.

Microscope.

L'examen des coupes disposées en spirale sur le disque demandait complémentairement l'emploi d'une table de microscope spéciale. Nous avons décrit et figuré dans notre premier mémoire un microscope modifié pour servir à examiner les disques perforés au centre.

Nous avons abandonné dans la suite l'usage des disques troués pour faire des préparations permanentes, montées dans des milieux résineux. Nous continuons cependant toujours à nous servir de ce statif (fig. 11) pour faire des préparations extemporanées, qui ne demandent pas à être conservées. Au lieu de nous servir de porte-objets rectangulaires de format anglais, nous avons toujours un disque sur la table du microscope, sur lequel nous plaçons les objets à examiner, à la périphérie du disque. Ce dispositif nous rend de



11.

réels services surtout pour l'examen d'objets très longs, tels que ténias, nématodes, filaires, algues qu'on peut enrouler et disposer en cercle et en spirale. L'examen de ces objets qui auraient auparavant nécessité l'emploi de porte-objets d'une dimension exagérée, très difficiles à manipuler, impossibles à laisser en place, s'opère au moyen du disque avec la plus grande facilité, avec rapidité et dans des conditions excellentes de stabilité.

L'objet est amené dans toutes ses parties sous l'objectif en combinant le mouvement produit suivant le rayon du disque, par la vis située à droite de la table, actionnée par la main droite; avec

le mouvement circulaire que la main gauche imprime au disque dépassant le bord gauche de la table.

La combinaison de ces deux mouvements permet de suivre, sans jamais les perdre de vue, un seul instant, les objets les plus sinueux, les plus contournés, les plus repliés sur eux-mêmes, et cela sans aucun tâtonnement.

Les deux mouvements se produisant simultanément, entraînent l'objet suivant une résultante courbe, suivant une ligne qui s'adapte à toutes les formes observées, avec une aisance beaucoup plus grande que celle des tables actuellement en usage.

Ces dernières tables ne déplacent jamais l'objet que suivant une ligne droite et on ne peut le déplacer sans faire subir à l'objet des déplacements doubles, à angle droit, et toujours successivement. Les deux mouvements à angle droit ne s'opèrent pas simultanément, mais l'un après l'autre. La main qui opère doit agir successivement sur les deux crémaillières, tandis que suivant notre système les deux mains agissent simultanément, et produisent le déplacement de l'objet en une seule fois, dans le même temps.

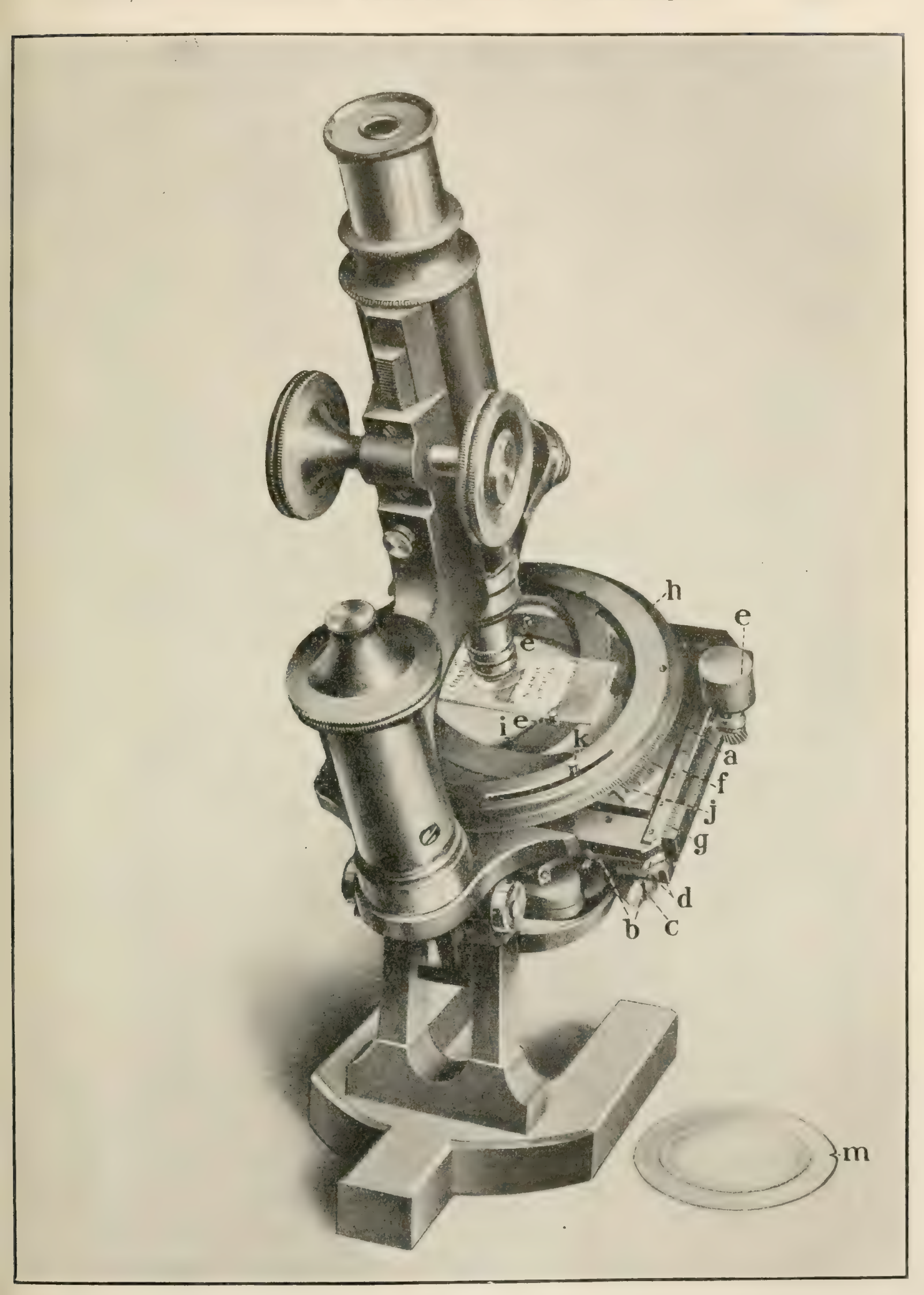
Le statif à disque perforé au centre nous à aussi rendu de grands services pour l'étude rapide du Plancton.

Nous employons dans ce but un disque dans lequel nous avons fait creuser, suivant un cercle périphérique une série de petites cellules que nous recouvrons de couvre-objets séparés, ou bien d'un seul couvre objet annulaire (l. c. fig. 10 et p. 153). Nous distribuons dans chacune des cellules une goutte de Plancton au moyen d'une pipette.

Nous pouvons ainsi observer rapidement et successivement une quantité beaucoup plus grande d'objets, et nous rendre compte aussitôt de la richesse et de la nature des objets qui dominent dans le plancton du jour.

Ce même disque nous a beaucoup servi également pour étudier comparativement les stades de développement des œufs en segmentation. Prenant des œufs dans nos cultures à des heures espacées diversement suivant les circonstances de l'expérience, nous les fixons ou les étudions vivants et nous possédions ainsi sur un même disque tous les stades de développement à côté les uns des autres, nous pouvons en faire instantanement la comparaison et suivre les changements qui s'opèrent sous nos yeux, sans avoir jamais besoin d'enlever la préparation de la table.

Nous nous servons donc en résumé du statif auquel les disques



12.

troués au centre peuvent s'adapter, pour les observations courantes qui peuvent être faites avec des grossissements relativement simples, ou des objectifs à sec.

Nous avons déjà donné antérieurement les raisons qui nous ont déterminé à employer les disques non troués de préférence aux autres, pour faire des préparations à monter dans les milieux résineux (l. c. p. 166), nous n'y reviendrons plus.

Nous indiquions aussi à cette époque comment il faudrait construire une table qui pourrait s'adapter à tous les microscopes et nous proposions l'utilisation d'un système analogue à celui qui est appliqué au mouvement du diaphragme iris, situé sous le condensateur.

Nous devons à la complaisance et à la bonne volonté de la maison Seibert de Wetzlar, d'avoir vu nos idées réalisées à notre entière satisfaction.

On trouvera dans la figure 12 un exemple de la modification et de la nouvelle table construite et adaptée à un statif IV^a de Zeiss. La plaque supérieure de la table, qui est en ébonite, a été enlevée. Une pièce de cuivre, percée d'une rainure longitudinale *a*, a été fixée à la platine inférieure de la table qui est en cuivre.

A la face inférieure de cette pièce en cuivre ajoutée, deux glissières *b* maintiennent un chariot mobile d'avant en arrière *c*.

Ce chariot porte en dessous une autre lame de cuivre sur le bord extérieur de laquelle une crémaillière est fixée *d*.

Cette crémaillière regardant latéralement à droite, est en rapport avec une petite roue, qui elle-même est commandée par un bouton *e*. Par conséquent, le chariot actionné par le bouton, se déplace suivant une course de 50 millimètres et plus.

L'échelle graduée est fixe *f*, et un vernier mobile comme le chariot, court le long de son bord, il est attaché au bord de la crémaillière et suit donc tous les mouvements de celle-ci *g*.

Le chariot porte en outre, sur sa face supérieure, une pièce qui s'engage dans la rainure creusée dans la plaque de cuivre de la table. C'est sur cette pièce qu'est attachée la partie principale de la nouvelle table, à savoir, un anneau portant lui-même un cadre gradué. Cet anneau qui participe à tous les mouvements du chariot n'est pas visible sur la figure; il est recouvert par un cadre circulaire *h* portant dans son intérieur le mécanisme du diaphragme simplifié *i* pour s'adapter à des disques de grandeurs différentes, et sur son bord externe une échelle graduée en 360 degrés. Un second

vernier, fixé et immobile, est en rapport avec le bord de l'échelle graduée mobile sur l'anneau circulaire *j*. Une simple lecture donne donc la position exacte d'un rayon au dixième de millimètre.

Les mouvements centrifuges ou centripètes des trois branches du diaphragme sont réglés par le bouton mobile qui se trouve à la face supérieure du cadre *k*. Sur chacune des trois branches mobiles du diaphragme un bouton métallique sert à maintenir le disque dans une position toujours la même. Il suffit d'amener les trois boutons en contact avec le bord du disque, pour que celui-ci se trouve immobilisé.

Mais il ne suffit pas qu'il soit immobilisé et stable, il faut qu'il le soit toujours au même endroit, il est nécessaire qu'on puisse le replacer toujours au même point et cela d'une manière certaine. Dans ce but une petite encoche *m* en forme de coin est faite dans chaque disque, et cette encoche s'applique à un des trois boutons que l'on choisira toujours le même pour avoir de l'uniformité dans les chiffres fournis par l'appareil, et de préférence toujours le plus près du zéro de la graduation. On aura par conséquent toujours soin de commencer la distribution des coupes, le plus près possible de l'encoche du disque, de façon que les chiffres reperés aillent toujours en progressant, au fur et à mesure que l'on avancera dans la série des coupes.

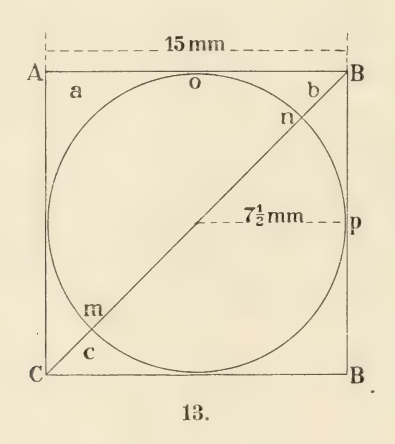
De cette manière, le disque sera donc toujours replacé au même endroit et conservera toujours les mêmes rapports avec le cadre gradué.

Ce statif est donc indiqué pour toutes les recherches de fine microscopie, cytologie, bactériologie, qui nécessitent l'emploi des objectifs à court foyer et à immersion.

La recherche des microbes dans un frottis, un crachat, une goutte de pus s'opère avec une securité absolue de ne rien laisser passer, et avec une rapidité beaucoup plus grande que par le système à chariots perpendiculaires l'un sur l'autre. Le mouvement de la préparation est le suivant: de la main gauche on imprime au disque porte-objet, un mouvement circulaire de balance, parcourant le couvre-objet d'un côté à l'autre, et quand on est au bout de la préparation, de la main droite appliquée sur le bouton on imprime à tout le chariot un mouvement antéropostérieur pour faire avancer la préparation sur le rayon. De cette manière les deux mains sont actives presqu'en même temps, la main gauche déterminant le mouvement de rotation, et la main droite le mouvement d'arrière en

avant. Supposons un médecin qui veut suivre l'évolution d'une maladie tuberculose, pneumonie, blennorhagie. Il réservera un disque à chaque malade, et il arrangera successivement sur le tour du disque tous les couvre-objets employés aux analyses après coloration, en indiquant par les chiffres de verniers, les endroits repérés comme intéressants. Il pourra dans la suite, presqu'instantanément, se rendre compte d'une amélioration ou d'une aggravation, suivre les progrès de la guérison par la comparaison des préparations alignées les unes à côté des autres.

Un des plus grands avantages de la méthode c'est la précision plus grande du repérage.



13.

Supposons un couvre-objet de 15 mm de côté (fig. 13), en employant les chariots actuellement en usage, donnant deux échelles graduées perpendiculaires l'une sur l'autre, on pourra repérer avec les verniers les points mathématiques résultant de la multiplication des côtés, soit

$$150 \times 150 = 22\,500 \text{ points mathématiques.}$$

Avec notre méthode si l'on place le couvre-objet au centre du disque. Le nombre des points repérables sera facilement calculé de la manière suivante: Il équivaudra au chiffre fourni par la multiplication du rayon $7\,{}^1/_2$ par la circonférence graduée en 360 degrès, multipliée par les verniers soit $3600 \times 75 = 270000$ points mathématiques, pour le cercle contenu dans le rectangle *ABCD*.

Il faut ensuite ajouter tous les points repérables indiqués par l'appareil dans les surfaces angulaires $a + b + c + d$.

On peut aisément calculer ce nombre de points.

Le diamètre du cercle étant 15, l'hypothénuse du carré $ABcD = 212$, d'où il résulte $cm + nB = 212 - 150 = 62$, d'où $nB = 31$.

La nouvelle table de microscope pourra donc donner sur la distance nB 31 arcs de cercles, en progression de op ayant 900 points, jusqu'à 1 au point B. Nous pouvons par conséquent prendre la moitié pour moyenne et nous pourrons calculer que dans chaque angle il y aura

$$450 \times 31 \times 4 = 55800 \text{ points.}$$

Mais comme le cercle a déjà été compté dans le premier calcul et est par conséquent compris dans le chiffre de 270000, il ne peut être compté deux fois, il faut par conséquent retrancher 3600 points du total.

Nous arrivons ainsi à établir que la nouvelle table de microscope peut repérer sur une surface de 15 mm de côté:

270000 + 55800 = 325800 — 3600 = 322200 points mathématiques, tandis que d'après la méthode actuellement en usage on en obtient seulement 22500.

Ces chiffres sont valables naturellement pour le centre même du disque ou pour tout couvre-objet placé au centre du cadre gradué de la table. Le nombre diminuera au fur et à mesure que l'on s'éloignera du centre, mais sans jamais toutefois devenir inférieure à celui fourni par les tables à coordonnées rectangulaires.

Si donc l'objet à étudier est très petit il y aura toujours avantage à le placer vers le centre du disque, quand on voudra le repérer avec certitude et rapidité.

Les branches du diaphragme sur lesquelles les disques sont placés, reçoivent aussi aisément les porte-objets rectangulaires employés actuellement, dans deux angles rectangles qui s'appliquent aux angles du porte-objet. Le milieu du porte-objet est donc toujours placé au milieu du cadre gradué à l'endroit qu'on peut repérer avec la plus grande précision.

La figure 12 représente le microscope portant un porte-objet rectangulaire, qu'on peut remplacer par un disque m, à volonté.

Nous donnons, en outre, trois spécimens de préparations obtenues par notre méthode. La figure 2 représente une série de coupes

longitudinales obtenues dans un embryon de salamandre de 2 cm de long. L'embryon a été attaqué par la face dorsale, et les dernières coupes ont atteint le vitellus de l'œuf.

La figure 3 représente une série de coupes transversales à travers un embryon de même taille, de la tête à la queue. L'embryon est donc tout entier sur le disque. (Les photogrammes 2 et 3 ont été réduits à la moitié de leurs dimensions.)

La figure 4 représente une série de coupes à travers une ponte de mollusque dont les œufs sont tout à fait microscopiques, pour donner un exemple de l'application de la méthode aux recherches cytologiques les plus délicates.

Résumons pour finir les avantages de la méthode en quelques courtes propositions.

1° Pour le microtome, les coupes sont recueillies directement quand elles dépassent la lame du couteau et collées sur le disque au fur et à mesure qu'elles se produisent. On ne doit donc plus découper le ruban en segments courts, opération qui est toujours une cause fréquente d'accidents, d'interruption dans la succession régulière des coupes par suite d'un renversement souvent involontaire du segment coupé.

Les coupes par notre méthode sont disposées en sériation continne et régulière et sans aucune interruption.

Pour les objets de moyenne dimension, embryons, petits animaux, il est très aisé d'arranger toutes les coupes sur un même disque.

2° La méthode fait en outre réaliser une grande économie.

a) L'espace disponible sous le couvre-objet est utilisé d'une manière plus complète, il en résulte que le coût du couvre-objet est notablement diminué. Sur un disque de 75 mm de diamètre, il est très aisé d'arranger autant de coupes que sur dix porte-objets de format anglais, sous des couvre-objets de 18 à 24. Ces dix couvre-objets coûtent en moyenne 40 à 50 centimes. Un couvre-objet de 65 mm de diamètre coûte 30 centimes.

b) Les manipulations, passage dans les essences, alcools. colorants s'opèrent en une seule fois pour un nombre de coupes considérablement plus grand. Il en résulte économie de temps et de réactifs.

3° Quant à la table de microscope il faut lui reconnaître une précision beaucoup plus grande pour le repérage des objets très petits. L'avantage de pouvoir suivre rapidement toutes les coupes faites à travers un organe, un animal, un embryon, sans avoir besoin de changer jamais la préparation, ni même de passer d'une ligne à une autre ligne. L'examen des grandes séries de coupes est donc continu. L'observateur peut d'un seul mouvement de la main gauche, sauter 50 et même 100 coupes, parcourir toute la série avec rapidité, suivre un organe, un système sans presque jamais le perdre de vue.

Cette succession est tout aussi rapide et régulière sur l'écran d'un appareil à projection, on serait tenté de dire qu'elle peut être cinématographique.

4° Le mouvement est beaucoup plus facile que celui des deux vis micrométriques à direction perpendiculaire l'une sur l'autre. Celles-ci doivent toujours être mises en mouvement l'une après l'autre, tandis que dans notre instrument les deux mouvements peuvent être simultanés.

5° Elle peut servir à la fois pour des porte-objets soit rectangulaires soit circulaires.

[Eingegangen am 7. Mai 1909.]

Über ein verbessertes „Rocking-Microtome".

Hergestellt von der Firma Van der Stad in Amsterdam.

Von

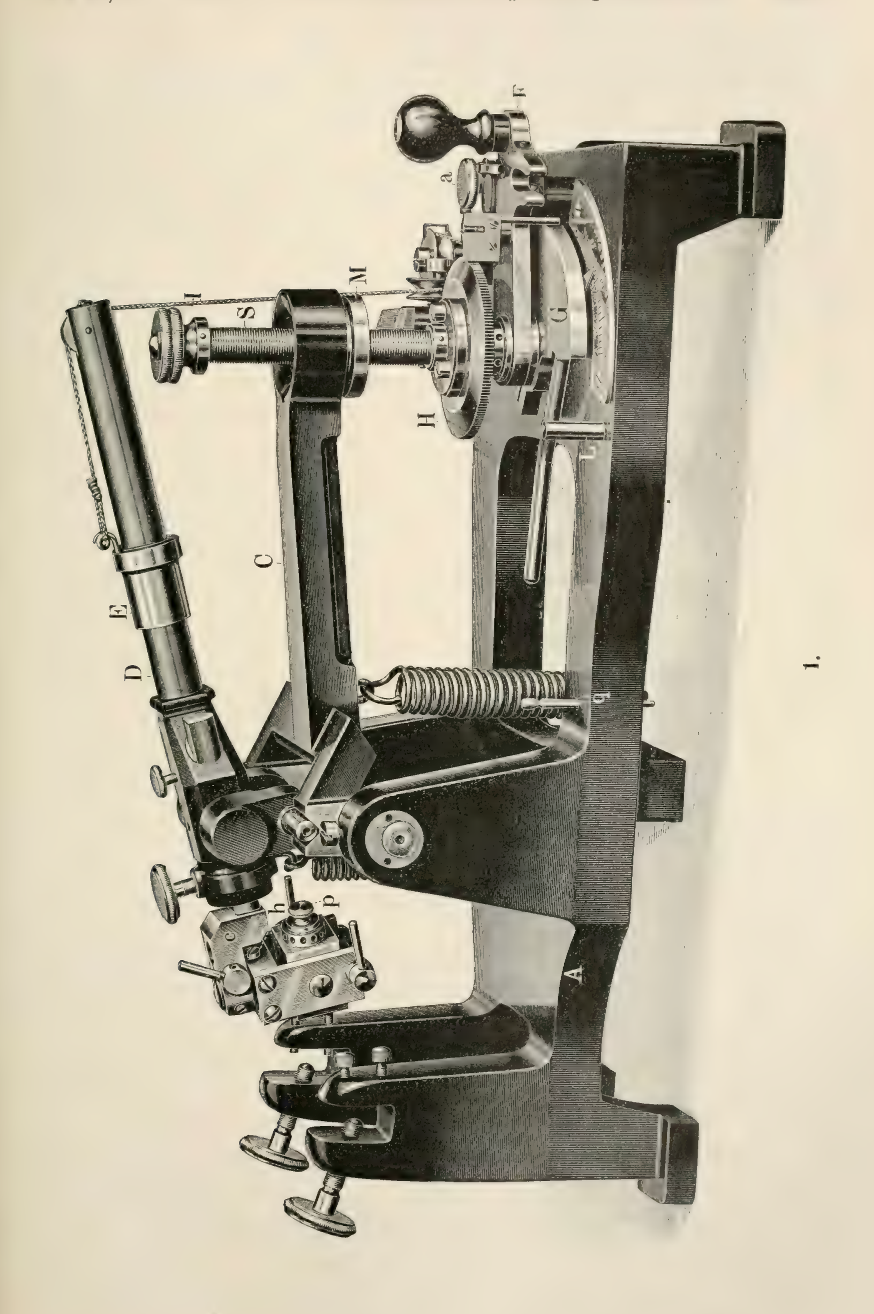
Dr. J. Boeke
in Leiden (Holland).

Hierzu sechs Textabbildungen.

Das von Caldwell erfundene „Rocking-Microtome", zuerst von der Cambridge Scientific-Instrument Co., später von der Firma R. Jung in Heidelberg nach den Angaben der Neapelschen zoologischen Station in bedeutend verbesserter Ausführung angefertigt, hat entschieden einen sehr großen Einfluß auf die Entwicklung der Mikrotechnik in den letzten Dezennien ausgeübt.

Mit dieser Mikrotomkonstruktion tat Caldwell einen besonders glücklichen, fast genialen Griff, dessen Bedeutung man wohl einigermaßen ermessen kann aus dem Umstande, daß das „Rocking-Microtome" jetzt, nachdem sich die Zahl der Mikrotomkonstruktionen ungeheuer gemehrt hat, noch immer zu den beliebtesten Instrumenten gehört. Sein einfacher, unverwüstlich starker Bau, seine besonders einfache Handhabung, die Schnelligkeit, mit welcher es zu arbeiten gestattet, sowie die in der besonderen Konstruktion, welche ein Spiel zwischen den bewegenden Hauptteilen absolut ausschließt, bedingte Exaktheit seiner Funktion weiß jeder Mikrotechniker, der mit diesem Instrumente arbeitet, zu schätzen. Jede Verbesserung dieses Mikrotom-Typus, der so viel günstige Eigenschaften in sich vereinigt, ist deshalb mit Freude zu begrüßen.

Die Firma Wed. C. van der Stad & Co. in Amsterdam hat, zum Teil nach meinen Angaben, ein Rocking-Microtom konstruiert, das gegenüber den üblichen Ausführungen wichtige Verbesserungen zeigt und das bei billigem Preise so günstige Konstruktionselemente besitzt, daß ich dasselbe wert achte einem größeren Kreise bekannt gemacht zu werden. Die allgemeinen Vor- und Nachteile des Rocking-



1.

Microtomes als bekannt voraussetzend, schreite ich sofort zur Beschreibung der dem betreffenden Instrumente eigenen Vorteile.

Da besonders die ganz vorzügliche technische Bearbeitung dem Instrumente seinen großen Wert verleiht, werde ich dabei oft technische Probleme berühren müssen. Die sich hierauf beziehenden Angaben wurden mir von der Firma Van der Stad freundlichst zur Verfügung gestellt.

Um die Form des betreffenden Mikrotomes zu zeigen, gebe ich in der Figur 1 eine Abbildung des ganzen Instrumentes.

Wie die Betrachtung dieser Figur 1 lehrt, ist die Grundform des Instrumentes nicht wesentlich anders als bei dem alt herkömmlichen Modell. Nur ist sie eleganter und, wie im folgenden noch ausführlich dargelegt wird, stabiler als bei den bis jetzt gebrauchten Schaukel-Mikrotomen. Jetzt schreitend zu der Beschreibung der dem hier vorgeführten Instrumente eigentümlichen Eigenschaften will ich zuerst die Konstruktionsdetails, welche die augenblickliche Verwendbarkeit desselben erhöhen, hervorheben, um dann die Aufmerksamkeit auf die ebenfalls wichtigen Faktoren zu lenken, welche zum Zweck haben die Abnützung resp. deren nachteiligen Einfluß auf die sichere Funktion zu verringern, kurz dem intensiv benutzten Instrumente eine möglichst lange Lebensdauer zu sichern.

A. Konstruktionselemente, welche die augenblickliche Verwendbarkeit günstig beeinflussen.

1) Einer der vier Füße der schweren Basisplatte A ist kürzer gehalten als die übrigen drei und dient zur Aufnahme einer Stellschraube (a, Fig. 1 u. 5).

2) Das vorliegende Instrument kann nach Wunsch eingerichtet werden in

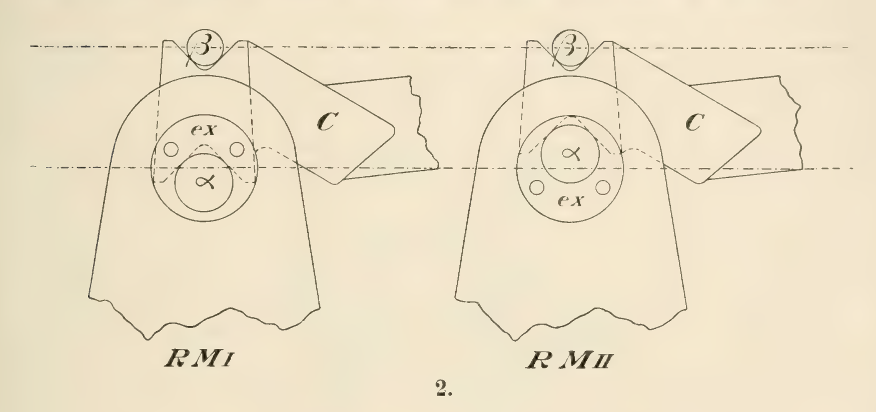
Ausführung $RM\,I$ für Schnittdicken von 0 bis 25 μ mit 1 μ steigend oder in

Ausführung $RM\,II$ für Schnittdicken von 0 bis 20 μ mit 0·5 μ steigend.

Der Besitzer eines Instrumentes in der einen oder anderen Ausführung kann dasselbe durch Auswechslung (Fig. 1) des Hebels C, des Komplexes Mikrometerschraube-Mutter-Zahnrad SMH, sowie der auf der Basisplatte A verschraubten Skala für die Angabe der Schnittdicke gegen die entsprechenden zur anderen Ausführung gehörenden Teile, leicht in das andere überführen.

Weitere Teile brauchen nicht ausgewechselt zu werden, auch nicht die Spiralfedern, welche auf die Hebel *C* und *D* einen Zug in der Richtung nach der Basisplatte *A* ausüben.

Wie n. l. die Figur 2 erläutert, ist die Achse, um welche sich der Hebel *C* dreht, in exzentrischen Büchsen *ex* gelagert, deren Exzentrizität so bemessen ist, daß eine Drehung derselben um 180^0 es trotz des kürzeren Abstandes der Achsen α und β bei der Ausführung *RMII* gestattet die Achse β des Hebels *D* und die Unterfläche des Hebels *C* resp. die Ansätze der genannten Spiralfedern an diese Hebel in gleicher Höhe über der Basisplatte zu halten.



2.

Beide Ausführungen haben ihre Vorzüge. Die von der Ausführung *RMII* gebotene Möglichkeit, die Schnittdicke mit 0·5 μ variieren zu können, ist für gewisse Fälle vorteilhaft.

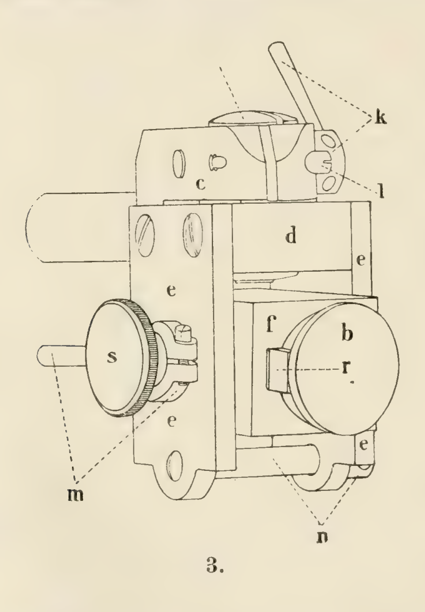
Wo die Disposition die Schnittdicke mit 1 μ variieren zu können genügt, ist die Ausführung *RMI* wegen seiner gröberen Mikrometerschraube resp. Verzahnung des Sperrzahnrades *H* unbedingt vorzuziehen. Letztere Ausführung ist speziell dort, wo das Instrument regelmäßig von Ungeübten benutzt werden soll, zu empfehlen.

3) Besondere Vorteile bietet die Konstruktion des Objekthalters, welchen ich an der Hand der Figuren 1, 3 und 4 ausführlicher beschreiben will.

Wie üblich gestattet die Konstruktion des Objekthalters den zur Aufnahme des Objektes bestimmten Zylinder um drei einander rechtwinklig schneidende Achsen zu drehen und somit dem Objekte jede gewünschte Orientierung zu erteilen.

Wie die Figuren 1 und 3 deutlich zeigen, besteht der Oberteil des Objekthalters aus einem kräftigen Winkelstücke *c*, das getragen wird von einem sich an dem kürzeren Schenkel desselben ansetzenden, abgeplatteten, starken Rundstifte, welcher leicht verschiebbar in einer entsprechenden Bohrung des Schaukelhebels *D* eingepaßt und darin mittels zweier Kordelschrauben zuverlässig fixiert werden kann.

Gegen die Unterfläche des längeren Schenkels des Winkelstückes *c* ist drehbar (um eine Achse, die wir kurzweg die vertikale Drehungs-



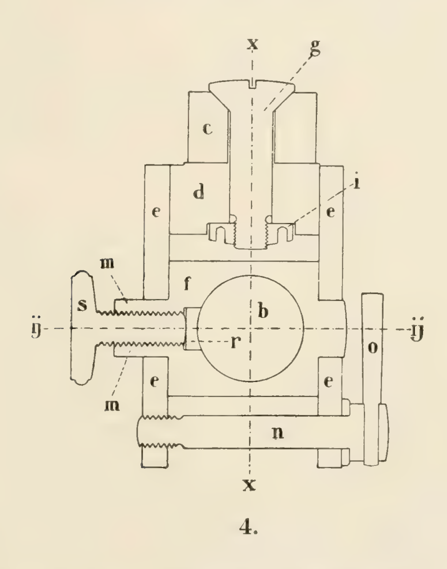
3.

achse nennen wollen) angeordnet ein niedriges, vierseitiges Prisma *d*, welches an zwei einander gegenüber liegenden Flächen je einen flügelartigen Fortsatz *e* trägt. Diese Flügel *e* fassen zwischen sich das um die horizotale Achse drehbare Prisma *f*, welches in einer entsprechenden Bohrung den um seine eigene Achse drehbaren Objektzylinder *b* aufnimmt.

Weitere Details zeigt die Figur 4, ein Frontalschnitt des Objekthalters, gelegt durch die vertikale Drehungsachse *xx* und da bei der Schnittbildung der drehbare Unterteil des Objekthalters in seiner Mittelstellung gedacht worden ist, zugleich enthaltend die horizontale Drehungsachse *yy*, welche sich mit der vertikalen *xx* in einem Punkte der Objektzylinderachse schneidet.

Drehung um die vertikale Achse.

Dieselbe vollzieht sich, wie bereits bemerkt, zwischen dem Winkelstücke *c* und dem Prisma *d*. In einer Bohrung des letzteren Teiles ist die gußstählerne Schraube *g* genau eingepaßt. Der zylindrische Schaft dieser Schraube ist an seiner Hinterseite über einige m. M. etwas abgeplattet. Gegen diese Abplattung kann die an der Hinterseite des Prismas *d* sich befindende gehärtete Gußstahlschraube *h* (Fig. 1) fest angeschraubt werden.



4.

Wenn diese Schraube eine Spur gelüftet wird, ist es möglich, die Schraube *g* in der Bohrung des Prismas *d* sei es auch mit ziemlich starker Reibung zu verschieben, doch infolge der erwähnten Abplattung in Verbindung mit der Schraube *h* nur parallel an sich selbst, d. h. ohne gleichzeitige Drehung.

Das obere konisch gebildete Ende der Schraube *g* wird in eine entsprechend konische Versenkung des Winkelstückes *c* aufgenommen.

Der untere Gewindeteil dieser Schraube trägt eine Mutter *i*, welche teilweise in einer flachen Versenkung des Prismas *d* eingelassen worden ist.

Es ist leicht verständlich, daß der justierende Mechaniker durch entsprechende Drehung der Mutter *i* bei einer spurweisen Lüftung

der Schraube *h* ein inniges Anliegen des konischen Kopfes der Schraube *g* an die ihn aufnehmende konische Versenkung des Winkelstückes *c*, sowie der aufeinander drehenden Flächen des letzteren und des Prismas *d* erzielen kann.

Wenn diese Justierung erreicht ist, wird die Schraube *h* fest angedreht und damit der Drehungsbolzen *g* fest mit dem Prisma *d* verbunden.

Der Unterteil des Objekthalters soll jetzt mit leichter Reibung gegen die Unterfläche des Winkelstückes *c* drehbar sein.

Zur Feststellung dienen die in der Figur 3 sichtbare Schlitzung des vorderen Teiles des letzteren, sowie die Schraube *k*. Durch Andrehen dieser Schraube werden die rechts und links vom Schlitze gelagerten Teile des Winkelstückes *c* sei es auch nur um eine Spur gegeneinander genähert. Der das Winkelstück durchsetzende Schaft der Schraube *g* bietet dieser gegenseitigen Annäherung kein Hindernis, da die Bohrung im ersteren etwas größer als der Durchmesser des Schraubenschaftes gehalten ist.

Bei dieser gegenseitigen Annäherung der vorn durch den Schlitz getrennten Teile des Winkelstückes *c* wird, richtige Justierung der Mutter *i* vorausgesetzt, der konische Kopf der Schraube *g*, sei es auch nur um eine Spur gewissermaßen aus der ihn aufnehmenden konischen Versenkung des Winkelstückes *c* nach oben herausgepreßt werden.

Da jedoch die Schraube *g* mit dem Prisma *d* nach dem festen Andrehen der Schraube *h* (Fig. 1) als ein Ganzes zu betrachten ist, wird in dieser Weise ein starkes Klemmen der aufeinander drehenden Flächen der Teile *c* und *d* erreicht, und zwar ohne meßbare Änderung der Orientierung dieser beiden Teile gegeneinander.

Daß diese Art Klemmung weit wirksamer ist als die übliche Klemmung zweier durch einen Schlitz teilweise voneinander getrennten Teile um einen zylindrischen Stift steht wohl außer Frage.

Es erübrigt mir hier noch die Bedeutung der in der Figur 3 sichtbaren Schraube *l* zu erläutern.

Dieselbe hat den Zweck der bei der Justierung der Mutter *i* bestehenden Gefahr einer zu starken Erweiterung des Winkelstückschlitzes vorzubeugen.

Drehung um die horizontale Achse.

Die beiden Flügel *e*, welche das Prisma *f* (Fig. 3 u. 4) mit leichter Reibung drehbar zwischen sich fassen, bilden zugleich die

Lager für die Drehungszapfen dieses den Objektzylinder aufnehmenden Teiles. Wie die Figur 4 zeigt ist der linksseitige Zapfen etwas länger. Auf dem aus dem linksseitigen Flügel *e* hervorragenden Teil dieses Zapfens ist (Fig. 3 u. 4) ein geschlitzter Ring *m* verschraubt worden. An seiner Hinterseite trägt dieser Ring einen Stahlstift, mittels dessen man das Prisma *f* leicht in der gewünschten Orientierung bringen kann.

Die Fixierung des beweglichen Teiles kann auch hier ohne meßbare Änderung der eingestellten Orientierung erfolgen.

Dieselbe wird n. l. erzielt durch Andrehen der mittels des Hebels *o* regierten Schraube *n*, wodurch die beiden Flügel *e*, sei es auch nur um eine Spur gegeneinander genähert werden. Daß die Art Klemmung auch eine sehr wirksame ist, und daß dabei keine Änderung der Orientierung auftritt, braucht wohl nicht näher begründet zu werden.

Drehung um die Objektzylinderachse.

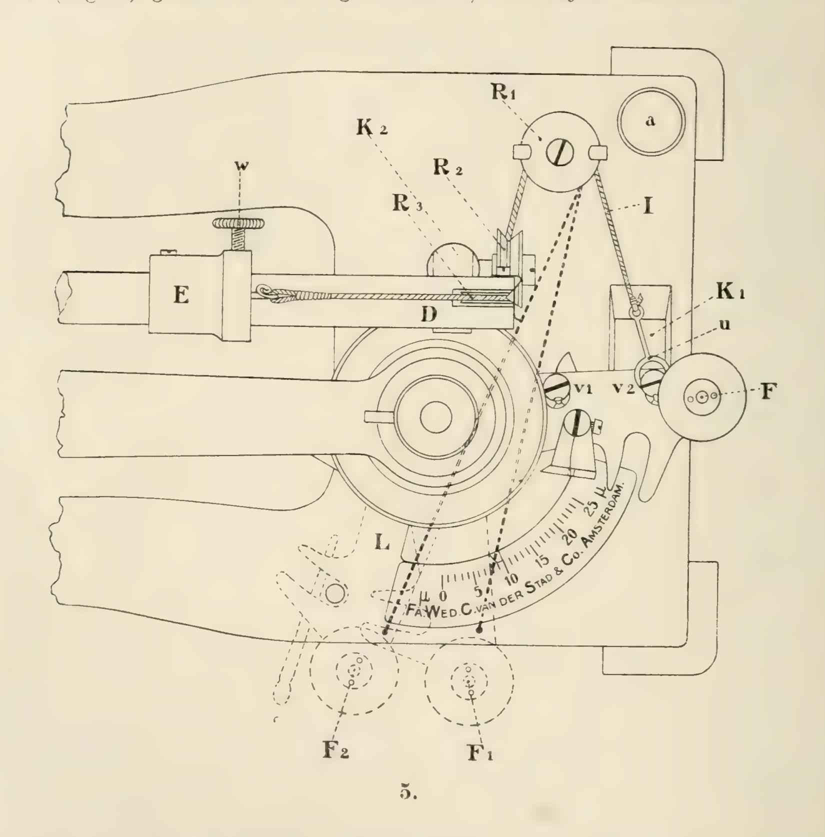
Die betreffende Einrichtung ist nach den bekannten Angaben der Neapelschen Station ausgeführt.

Das Hinterende des Objektzylinders besitzt, wie Figur 1 deutlich erkennen läßt, einen Kranz von Bohrlöchern, in welchen der jedem Instrumente beigegebene Stift *q* paßt. Mittels dieses Stiftes kann man den Objektzylinder leicht um seine Achse drehen.

Wenn die verlangte Orientierung erzielt ist, wird der in Figur 3 und 4 sichtbare gußstählerne Führungskeil *r* fest mit dem Objektzylinder verbunden. An diesen Führungskeil ist n. l. hinten ein plattes Metallstück angelötet, welches sich an die Hinterfläche des Objektzylinders anfügt und eine Bohrung besitzt zum Durchlaß des Schaftes der in Figur 1 angegebenen Schraube *p*. Durch Andrehen dieser Schraube wird der angelötete platte Teil des Keiles gegen die Hinterfläche des Objektzylinders fixiert resp. der ganze Führungskeil fest mit letzterem verbunden. Dann ist es nur möglich, den Objektzylinder parallel mit sich selbst, d. h. ohne Drehung im Prisma *f* zu verschieben. Die Feststellung des Objektzylinders erfolgt durch Anziehen der Kordelschraube *s* (Fig. 3 u. 4), dessen Gewindeteil den längeren Drehungszapfen für die horizontale Drehung des Prismas *f* durchläuft und mit seinem gehärteten Ende den federharten Führungskeil gegen den Objektzylinder drückt. Bevor ich die Beschreibung des Objekthalters beende will ich noch erwähnen:

a) Daß zwischen der Messerschneide und der zum Aufkleben des Objektes bestimmten Vorderfläche des Objektzylinders in seiner so weit wie möglich vom Messer gerückten Stellung ein Objekt von 25 mm Länge leicht Platz findet.

b) Daß man, nachdem das Hinterende des schaukelnden Hebels *D* (Fig. 1) ganz nach unten gedrückt ist, den Objekthalter als Ganzes



5.

leicht aus dem Mikrotome entfernen kann, ohne das Messer, sogar wenn dieses eine Breite von 30 mm hat, herausnehmen zu müssen.

4) Die Bewegung des Arbeitshebels *F* wird mittels der aus starker chinesischer Seide geflochtenen Schnur *I* auf den Schaukelhebel *D* übertragen, jedoch in einer von der üblichen abweichenden Weise (Fig. 1 u. 5).

Das eine Ende dieser Schnur ist mit einer Doppelöse (Fig. 5) verbunden, dessen größere Öse an eine der beiden Schrauben v_1

oder v_2 des Arbeitshebels angreift. Die Schnur läuft dann um die horizontale Rolle R_1, ferner um die vertikale Rolle R_2 und zuletzt über die Rolle R_3 im abgedrehten Hinterteile des Schaukelhebels D eingelassen, um sich dann mit einer nach den Angaben der Neapelschen Station verschiebbar, resp. mit der Schraube w feststellbar angebrachten Gleithülse E_1 zu verbinden.

Durch entsprechende Neusilberfedern, nur zum Teile in den Figuren sichtbar, wird verhütet, daß bei einer Erschlaffung der Schnur (z. B. wenn man das Hinterende des Schaukelhebels mit der rechten Hand nach unten drückt, um mit der linken den Objekthalter aus dem Mikrotome zu entfernen) dieselbe nicht von den Rollen abläuft, resp. der Kontakt der Öse mit dem Arbeitshebel aufgehoben wird.

Die beschriebene Einrichtung unterscheidet sich von der üblichen dadurch, daß drei statt zwei Gleitungsrollen angebracht sind, und daß die erste Rolle R_1, welche die Schnur vom Arbeitshebel F herkommend umzieht, um eine vertikale Achse drehend, d. h. horizontal angeordnet ist.

Damit wird der Vorteil erzielt die Bahnlänge des Objektes variieren zu können, indem man die Verbindung der Schnur mit dem Arbeitshebel durch Anhaken der Öse entweder an die Schraube v_1 oder v_2 herstellt.

Im letzten Falle ist die Winkeldrehung des Schaukelhebels also auch die Länge der Objektbahn etwa anderthalbmal so groß wie im ersten Falle.

Wenn man also ein sehr hohes Objekt zu schneiden hat, wird die Verbindung der Schnur mit der Schraube v_2 angezeigt sein.

Durch die weit nach hinten gerückte Stellung der Gleitrolle R_1, fast in der Verlängerung des Arbeitshebels in seiner äußersten Stellung F_2 nach hinten, wird noch ein anderer bedeutender Vorteil erreicht n. l. eine Reduktion des für die Schaltung, d. h. die Vorwärtsbewegung des Objektes, benötigten Teiles der Objektbahn.

Die Figur 5 zeigt dieses Verhalten deutlich. In dieser Figur ist der Arbeitshebel in drei verschiedenen Stellungen angegeben n. l.

a) in seinem Ruhestand F bedingt durch den an der Basisplatte A angegossenen Anstoß K_1;

b) durch gestrichelte Linien in seiner anderen äußersten Stellung F_2 bedingt durch den Anstoßstift L;

c) ebenfalls durch Strichellinien in seiner Stellung F_1, bei welcher für das Instrument *RMI* die Schaltung, d. h. die Vorwärts-

bewegung des Objektes, eine Einstellung für 10 μ Schnittdicke vorausgesetzt, beginnt.

Aus der Figur 5 ist ganz klar zu ersehen, daß derjenige Teil der Schnur, welcher sich zwischen der Gleitrolle R_1 und ihrem Ansatz an den Arbeitshebel befindet, bei der Stellung F_2 des letzteren nur unbedeutend länger ist als bei der Stellung F_1. Dies bedeutet, daß sich in einem nur ganz kleinen Endteil der Objektbahn die ganze Schaltung vollzieht.

Wie dieser Umstand der maximalen Höhe des noch schneidbaren Objektes zugute kommt, geht wohl genügend aus den folgenden Angaben hervor.

Bei Einstellung für eine Schnittdicke von 10 μ kann, wenn die Schnur an der Schraube v_1 angehakt ist, ein Objekt von 23 mm Höhe, falls die Schnur mit der Schraube v_2 verbunden ist selbst ein Objekt von 35 mm Höhe mit Leichtigkeit geschnitten werden.

Diese Zahlen gelten für das Mikrotom der Ausführung *RM I*. Für die Ausführung *RM II* sind diese Zahlen nur wenig ungünstiger n. l. resp. 20 und 31 mm.

An dieser Stelle möchte ich noch kurz erwähnen, daß die von der Neapelschen Station angegebene Einrichtung zur Fixierung des Arbeitshebels in seiner äußersten Stellung F_2 auch an dem hier vorgeführten Instrumente angebracht worden ist.

Dazu wird, wie die Figur 5 zeigt, der Stift q (Fig. 1) in die entsprechenden Bohrungen der schnabelförmigen Fortsätze des Arbeitshebels hineingesteckt, wodurch der letztere in seiner äußersten Stellung F_2 um den Anschlagstift L fixiert wird.

Diese Einrichtung in Verbindung mit dem auf dem Hinterende des Schaukelhebels D verschiebbar, resp. feststellbar angebrachten Gleitstück E gestattet das Objekt in jedem Punkte seiner Bahn dauernd fixiert zu erhalten. Die Beschreibung der Figur 5 abschließend, bemerke ich noch, daß ein Zusammenstoß des Hinterendes des Schaukelhebels D mit dem Zahnrade H durch den mit Gummibelag versehenen Anschlag K_2 verhütet wird.

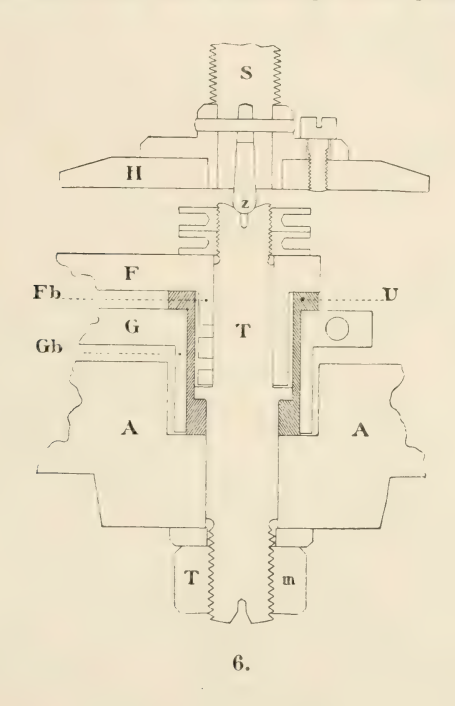
5) Wie die Betrachtung der Figur 1 lehrt, besitzt jeder der zwei an der Basisplatte angegossenen Messerständer eine Hohlkehle und drei Schrauben zur Aufnahme, resp. Fixierung des Messers.

Von diesen Schrauben dienen die zwei kleineren dazu dem Messer die günstige Schrägstellung zu erteilen, indem die größere Kordelschraube zur Fixierung des Messers dient. Die das Messer aufnehmenden Hohlkehlen sind genügend breit ausgearbeitet, um sogar

ein Messer von 12 mm Rückenstärke noch genügend schräg stellen zu können. Ich arbeite fast immer mit den starken Borel-Messern. Sogar mit diesen Messern ist die richtige Schrägstellung immer zu erreichen.

B. Konstruktionsfaktoren, welche zum Zweck haben die Abnützung, resp. deren nachteilige Folgen zu verringern.

1) Ohne Frage kann die Abnützung durch günstige Wahl der



6.

beim Bau eines Instrumentes verwendeten Materialien bis zu einem Minimum herabgesetzt werden.

Nach den Angaben des Konstrukteurs — und ich schenke, auch auf Grund meiner Erfahrungen mit von ihm bezogenen Instrumenten, denselben unbedingt Glauben — ist in dieser Richtung bei dem vorliegenden Instrumente alles mögliche getan.

Wo es nur einigermaßen angezeigt war, ist der beste Werkzeuggußstahl zur Anwendung gekommen.

Das weiche Messing ist gänzlich vermieden worden, anstatt desselben ist immer eine härtere der Abnützung besser widerstehende Bronze-Legierung verwendet worden.

2) Ganz besondere Garantie für eine langdauernde sichere Funktion bietet die jetzt an der Hand der Figur 6 zu beschreibende Einrichtung.

Bei den üblichen Rocking-Mikrotomkonstruktionen drehen sich der Arbeitshebel und der zur Regulierung der Schnittdicke dienende Sektor um einen gemeinschaftlichen Drehbolzen, und zwar mit recht kurzer dem Durchmesser des letzteren oft nicht einmal gleichkommenden Führung. Dieser zu kurzen Führung der betreffenden Teile ist es dann auch größtenteils zuzuschreiben, daß bei den meisten lang und intensiv benutzten Rocking-Mikrotomen die Abnützung sich recht lästig bemerkbar macht durch einen sehr unsicheren, wackeligen Gang des Arbeitshebels.

Diesem Übel abzuhelfen ist der Zweck der durch die Figur 6 erläuterten Konstruktion. Diese Figur zeigt einen Durchschnitt der betreffenden Region durch die Achse des Drehbolzens *T*, um welchen sich der Arbeitshebel *F* dreht.

Der Sektor *G* ist nicht, wie üblich, ebenfalls um diesen Bolzen drehbar angeordnet, sondern dreht sich mit langer Führungsbüchse *Gb* um eine Stahlbüchse *U*. Diese Büchse wird mittels des Drehbolzens *T*, welcher zu diesem Zwecke einen ringförmigen, auf dem Boden der Büchse aufliegenden Kragen besitzt und seiner Mutter *Tm* in einer Versenkung der Basisplatte fest auf dieselbe verschraubt. Damit wird auch der Bolzen *T* festgestellt, und zwar so, daß seine Achse mit derjenigen der Büchse zusammenfällt.

Diese Anordnung gestattet, ohne den Drehbolzen *T* übermäßig nach oben verlängern zu müssen, auch den Arbeitshebel *F* an seiner Unterseite mit einer langen Führungsbüchse *Fb*, Platz findend in der Höhlung der Büchse *U*, zu versehen. Der zwischen beiden befindliche Raum wird mit Schmieröl gefüllt, welches durch entsprechende Bohrlöcher in der Wand der Büchse *Fb* Zutritt hat zum Drehbolzen *T*.

Daß die Abnützung ganz bedeutend verringert wird durch die beschriebene vorzügliche Schmiereinrichtung, sowie durch die lange Büchsenführung, und daß die letztere auch die nachteiligen Folgen der prinzipiell nicht ganz zu verhütenden Abnützung bedeutend herabsetzt, braucht wohl nicht näher erörtert zu werden.

Indem ich die technische Beschreibung beende, will ich an dieser Stelle noch kurz angeben, wie sich die Mikrometerschraube auf dem Bolzen *T* dreht.

Bekanntlich liegt bei vollkommen richtiger Justierung des Instrumentes die Achse der Mikrometerschraube nur in einer ganz

bestimmten Stellung der Mutter M, resp. des Hebels C (Fig. 1) in der Verlängerung der Achse des Bolzens T. In allen anderen Stellungen des Hebels C schneiden sich die betreffenden Achsen unter einem kleinen Winkel, dessen Größe mit der Stellung des genannten Hebels wechselt.

Es lag deshalb der Gedanke nahe, die nicht nur sich drehende, sondern auch kleine Schwingungen vollziehende Mikrometerschraube M durch ein Kugelgelenk mit dem Bolzen T zu verbinden.

Die Umbildung des Unterendes der Mikrometerschraube selbst zu einer Halbkugel würde in Hinsicht auf die Gefahr des Verziehens, welcher die Mikrometerschraube bei dem notwendig zu erfolgenden Härtungsprozesse ausgesetzt sein würde, nicht ratsam sein.

Das Unterende der Mikrometerschraube ist deshalb mit einer zentrischen konischen Bohrung versehen, in welcher ein unten halbkugelförmig ausgebildeter, gehärteter Stahlkonus z genau passend eingearbeitet ist.

Die obere Fläche des ebenfalls gehärteten Stahlbolzens T zeigt eine schwach konische Versenkung, in der Mitte derselben befindet sich die halbkugelförmige Gelenkpfanne.

Auf irgendeinen Punkt der schwach konischen Versenkung aufgesetzt gleitet das Kugelende des in der Mikrometerschraube eingepaßten Stahlkonus von selbst in die für ihn bestimmte Gelenkpfanne.

Hiermit sei die technische Beschreibung des Instrumentes beendet. Wie man sieht, habe ich nur die Punkte genauer erörtert, in welchen die Konstruktion des Instrumentes von den von anderen Mechanikern konstruierten Schaukelmikrotomen abweicht.

Zum Schluß noch die Mitteilung, daß sich das in den vorhergehenden Zeilen beschriebene Instrument auch in der Praxis vorzüglich bewährt hat. Sogar sehr schwierig zu schneidende Objekte ließen sich mit dem Mikrotom tadellos schneiden und die Genauigkeit seiner Funktion ist bei intensivem mehrjährigem Gebrauch nicht verringert. Der Preis des Instrumentes, welches von der Firma Wed. C. van der Stad & Co. in Amsterdam zu beziehen ist, ist bei der vorzüglichen Ausführung ein sehr niedriger zu nennen und beträgt 81 fl. (135 Mark).

[Eingegangen am 9. Juli 1909.]

Beschreibung eines automatischen Alkoholtropfers für das Jungsche Schlittenmikrotom.

Von

C. U. Ariëns Kappers
in Amsterdam.

Hierzu eine Textabbildung.

Früher befeuchtete man das Messer des Schlittenmikrotomes ein- oder zweimal mit einem Pinsel, bevor man einen Schnitt machte. Hierin hat Jung eine Erleichterung gebracht, indem er den Alkohol, der für die Befeuchtung dienen soll, in einem Reservoir unterbringt, welches an dem Gleitblock des Mikrotoms befestigt ist und sich mit diesem somit hin und her bewegt. In dem Reservoir *R* steckt ein vertikales Stahlröhrchen *S*, versehen mit einer sehr engen Höhlung, die durch eine fallende Kugel nach unten abgeschlossen wird. — Durch dieses Röhrchen kann der Alkohol des Reservoirs mittels eines kurzen Schlauches mit Glaspipette (*O*) versehen auf das Messer[1] gepreßt werden, indem man auf einen Gummiballon drückt, dessen langer Schlauch mit dem Reservoir kommuniziert. Da der Gummiballon auf dem Tisch liegt, bringt diese Anordnung deshalb eine Arbeitsersparnis, weil sonst eine Hand beim Schneiden ein paarmal gehoben werden muß, während jetzt die Hand, welche das Messer befeuchtet, auf dem Tisch liegen bleiben kann und bloß zu kneifen hat.

Man kann hierin noch eine kleine Verbesserung machen, indem man den hierneben abgebildeten Apparat gebraucht.

An dem dem Hebelrad gegenüberliegenden Ende des Mikrotombrettes ist auf einem festen Messingstativ ein Messingzylinder angebracht.

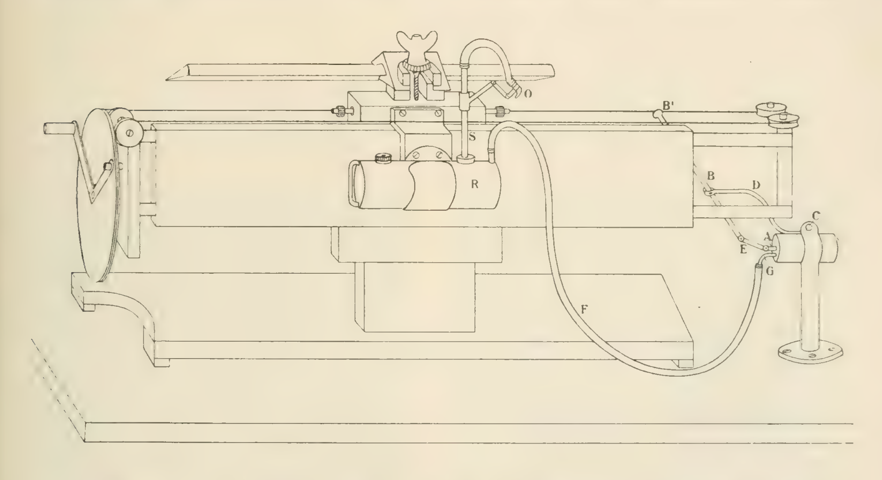
Der dem Mikrotom zugekehrte Boden des Zylinders ist unbeweglich in dem Zylinder einsoldiert und weist zwei Löcher auf. Durch

[1] Die Öffnung *O* muß sehr klein sein. Damit die Zeichnung die Konstruktion besser wiedergibt, ist die Glaspipette in der Zeichnung von dem Messer abgehoben. Sonst liegt sie darauf.

das Mittelloch geht eine horizontale Stange *A*, welche auf einem Hebelarm *B* (mit Knopf *B'*) mittels eines Zwischenstückes *E* wirkt.

Die horizontale Stange *A* ist an der runden Scheibe befestigt, welche in dem Zylinder hin- und herschiebt.

Die Stange *B* hat ihren Drehpunkt in einem gebogenen Stützarm *D*, welcher auf dem Zylinder (nicht an dem Bügel, welcher den Zylinder faßt) befestigt ist. Der kleine Nebenapparat ist so aufgestellt, daß, wenn der Gleitblock des Mikrotoms sich in der Richtung des Zylinders bewegt, kurz bevor er das Ende der Gleitbahn erreicht, gegen den Knopf *B'* drückt und dadurch die Luft im Zylinder komprimiert. Diese komprimierte Luft entweicht durch



das Röhrchen *G* und drückt mittels eines ziemlich langen Gummischlauches *F* auf die Luft im Alkoholreservoir, und dadurch wird das Messer befeuchtet, in dem Augenblick, wo es in seinem äußersten Stande ist.

Geht der Gleitblock mit dem Messer zurück, dann nimmt die vertikale Stange *B* ihren originalen Stand wieder ein, weil die Scheibe innerhalb des Zylinders an einer Stahlfeder befestigt ist, die ihn zurückdrückt. Damit diese rückgängige Bewegung möglich gemacht wird, ohne Luft oder Alkohol aus dem Reservoir zu saugen, ist der dem Mikrotom zugekehrte Boden des Zylinders mit einem kleinen dritten Loch[1] versehen, welches so abgeschlossen ist, daß es

[1]) Konnte nicht in der Figur angegeben werden, weil es sich hinter der Stange *A* befindet.

sich bloß nach innen öffnet. — Die zutretende Luft kommt dann direkt von außen in den Zylinder.

Weil die Quantität des befeuchtenden Alkohols nicht immer dieselbe ist — für sehr große Schnitte braucht man doch mehr als für kleine — ist der ganze Zylinder verstellbar in einem Bügel *C* gefaßt. Braucht man viel Alkohol, dann schiebt man den Zylinder etwas nach vorne, es wird dann alle Luft aus dem Zylinder herausgepreßt und dadurch ein Maximum Alkohol aus dem Reservoir gepreßt. Je nachdem man weniger braucht, kann man den Zylinder weiter nach hinten mittels der Bügelklammer feststellen.

Um zu verhindern, daß bei der rückgängigen Bewegung der Zylinderscheibe schließlich doch noch etwas Alkohol aus dem Reservoir in den Zylinder hineingezogen wird, habe ich in den Schlauch *F* ein kleines Glasreservoir von etwa 3 cc Inhalt eingeschaltet, und zwar in der niedrigsten Stelle des Schlauches, so daß eventuell eingesaugter Alkohol sich darin sammelt. — Wir gebrauchen das Instrumentchen jetzt ein halbes Jahr jeden Tag, und je mehr es gebraucht wird, um so besser gefällt es uns.

Ich will noch erwähnen, daß wir an dem Jungschen Alkoholreservoir noch zwei kleine Zusätze angebracht haben, und zwar das Füllloch *F* und das Pfeilglas *G*. Bei dem gewöhnlichen Reservoir von Jung fehlen diese, man muß füllen, indem man das Vertikalrohr vom Reservoir abschraubt, was weniger gut ist, weil es dann immer einen Augenblick dauert, bevor man das Vertikalrohr wieder vollgepumpt hat. Das Pfeilglas ist sehr angenehm, weil man damit immer weiß, wieviel Alkohol im Reservoir ist (zu wenig ist nicht gut). — Wir filtrieren den Alkohol immer, bevor wir ihn hineingießen und gebrauchen 50prozentigen.

[Eingegangen am 26. Juni 1909.]

[Aus dem Physiologischen Institut in Jena.]

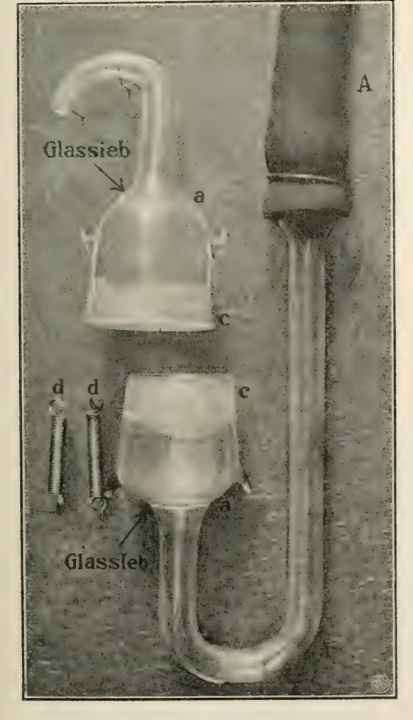
Einfache Wässerungsvorrichtung für fixierte Objekte.

Von

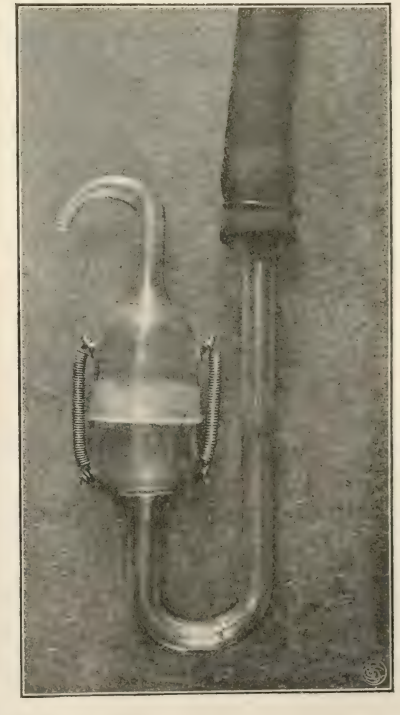
Cand. med. R. Kowler.

Hierzu zwei Textabbildungen.

Der Apparat besteht aus einer S-förmig gekrümmten Glasröhre, die an dem einen Ende durch einen aufgesetzten Gummischlauch (*A*) mit dem Wasserleitungshahn in Verbindung gebracht wird. In der



1.



2.

Mitte ist das Glasrohr kammerartig erweitert, die Kammer ist nach oben und unten durch eingeschmolzene Glassiebe abgeschlossen (*aa*). Die Kammer läßt sich in der Mitte durch Auseinandernehmen beider Hälften öffnen und dicht verschließen, da die Ränder angeschliffen sind (*cc*).

Das fixierte Objekt wird in die untere Kammerhälfte gelegt, der obere Teil aufgesetzt und durch Federn (*dd*), die oben und unten an Glashaken angebracht werden, mit der unteren Hälfte fest verbunden. In den an die Wasserleitung angebrachten Apparat wird nun langsam Wasser eingeleitet, um zunächst die Luft aus der Kammer zu verdrängen. Dann wird der Wasserstrom derartig geregelt, daß das Präparat am Boden der Kammer liegen bleibt.

Der Hauptvorzug dieser Einrichtung besteht darin, daß die ganze Kammer gleichmäßig durchströmt wird, weil das Wasser durch eine weite Öffnung Zutritt hat. Auch eine störende Ansammlung der Fixierungsflüssigkeit wird vermieden. Ferner wird verhindert, daß das Objekt an das Glas angedrückt wird.

Der Apparat ist von der Glastechnischen Werkstätte Otto Teschner in Jena angefertigt und zum Musterschutz angemeldet. Der Preis beträgt 3 Mk. für eine Größe von 50 cc Kammerinhalt.

[Eingegangen am 24. Mai 1909.]

Referate.

1. Lehr- und Handbücher.

Jagić, N. v., Atlas und Grundriß der klinischen Mikroskopie mit Berücksichtigung der Technik. Wien (M. Perles) 1908. 135 Seiten Text, 37 Tafeln m. 70 Abbild. 25 M.

Das hübsch ausgestattete Buch gibt Anweisungen für die mikroskopische Untersuchung des Blutes in normalen und pathologischen Zuständen, der Trans- und Exsudate, des Eiters, des Mund- und Rachensekretes, des Sputums, des Mageninhaltes, der Fäces, des Harnes. Die dargestellten Methoden sind für die klinische Praxis ausgewählt und gut dargestellt. Die trefflichen farbigen Bilder des Atlas sind nach Präparaten vom Material der I. mediz. Klinik in Wien gezeichnet. *O. Levy (Leipzig).*

Korányi, A. v., u. **Richter, P. F.,** Physikalische Chemie und Medizin. Ein Handbuch unter Mitwirkung von Dr. J. Bence, Prof. Dr. Boruttau, Prof. Dr. F. Bottazzi, Dr. F. Frankenhäuser, Dr. R. Höber, Prof. Dr. A. v. Korányi, Prof. Dr. A. Loewy, Prof. Dr. L. Michaelis, Dr. Oker-Blom, Prof. Dr. P. F. Richter, Dr. M. Roloff, Prof. Dr. C. Spiro und Prof. Dr. H. Strauss herausgegeben. Bd. II. Mit 24 Abbildungen. 484 pp. Leipzig (G. Thieme) 1908. 10 M.

Der zweite Band des Handbuchs[1] behandelt zunächst die Beziehungen der physikalischen Chemie zur Pathologie, Pharmakologie

[1]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 124.

und Balneologie. Die Mikroskopiker und Zellenforscher wird besonders das letzte Kapitel, welches die „physikalische Chemie der Kolloïde" behandelt, interessieren: L. Michaelis bespricht die Adsorptionserscheinungen, die Färbung mit sauren und basischen Anilinfarbstoffen, die Eigenschaften der Kolloïde, insbesondere ihre Zustandsänderungen, und die an den als Toxinen und Antitoxinen bekannten Kolloïden beobachteten Eigentümlichkeiten physikalisch-chemischer Natur. *Küster (Kiel).*

2. Mikrophotographie und Projektion.

Fuhrmann, Fr., Leitfaden der Mikrophotographie in der Mykologie. Mit 3 Tfln. u. 33 Abbildungen im Text. Jena (G. Fischer) 1909. 88 pp. 3 M.

Das Büchlein wird von den Bakteriologen und Mykologen als willkommenes Lehrbuch sehr begrüßt werden und ist gleichzeitig für alle Mikroskopiker als allgemeine Einführung in die Kunst des Mikrophotographierens bestens zu empfehlen. Es beschreibt die notwendigen Apparate, erklärt ihre Aufstellung und ihren Gebrauch, spricht über Lichtquellen und Lichtfilter, bespricht das Aufnahmeverfahren, den Negativ- und den Positivprozeß, behandelt die verschiedenen Vervielfältigungsverfahren für Tafel- und Buchdruck und leitet zur Herstellung geeigneter Präparate an — immer sind die Ausführungen für die Bedürfnisse des Mykologen und Bakteriologen berechnet. *Küster (Kiel).*

3. Präparationsmethoden im allgemeinen.

Liesegang, R. E., Zur Kritik der histologischen Färbemethoden (Zeitschr. f. Chemie u. Industrie d. Kolloïde Bd. IV, 1909, H. 1, p. 20—21).

Verf. hebt hervor, daß bei der Härtung und Färbung der tierischen Teile, die ja leider noch immer zur Untersuchung nötig ist, leicht irreführende Kunstprodukte entstehen können, d. h. neue Strukturen sich bilden können, welche ursprünglich gar nicht vor-

handen waren. Die auffallendsten Repräsentanten solcher Artefakte sind die Querstreifen, welche an Nervenfasern, Knorpeln, Blutgefäßen und anderen Gewebselementen und Organen bei der Behandlung mit Silbernitrat entstehen, besonders wenn man vorher oder nachher noch ein Bichromat verwendet. Verf. hat diese Schichtungen durch Eindiffundierenlassen von Silbernitratlösung in eine (in dieser Hinsicht strukturlose) Kaliumbichromat-Gelatine-Gallerte mikroskopisch genau nachgeahmt. Er macht darauf aufmerksam, daß Silberchromat durchaus nicht die einzige Substanz ist, welche Neigung zur Ablagerung in rhythmisch gesonderte Schichten hat. Cajal bezeichnet nun in seiner berühmten Nervenfärbungsmethode die Fibrillen als „argentophil". Ein Gallertexperiment läßt nach Verf. die Frage entstehen, ob dieser Ausdruck nicht irreführend ist. Er hat zu diesem Zwecke Versuche angestellt mit einer Glasplatte, die mit einer wässerigen Gelatinelösung überzogen war, der ein wenig Bromkalium zugesetzt war. Nach dem Festwerden wurde sie in einer 10prozentigen Silbernitratlösung gebadet: innerhalb der Gallertschicht bildete sich als feste Emulsion Bromsilber. Bei einem zweiten Versuche wurde der Bromkaliumgehalt der Gallerte wesentlich erhöht. Sie war also stärker argentophil. Bei der Behandlung mit der Silbernitratlösung bildete sich aber innerhalb der Gallerte keine Spur von Bromsilber. Die Bromsilberfreiheit der Gallerte erklärt sich dadurch, daß in diesem Falle die Pringsheimsche Membran (hier AgBr) undurchlässig für Silber, aber durchlässig für Brom war, während bei dem ersten Versuche das Umgekehrte der Fall war. Verf. schließt daraus, daß die Befunde von Cajal noch nicht zu beweisen brauchen, daß die Fibrillen in den Nervenzellen die am stärksten argentophilen Bestandteile sind. Es ist sogar die Frage erlaubt, ob sie nicht vielleicht nur die Grenzen einer stärker argentophilen Substanz sind. Verf. hält es daher auch für zweifelhaft, ob die von Schiefferdecker auf den Cajalschen Fibrillenbefund aufgebaute Theorie der chemischen Reaktion bei der Tätigkeit der Nervenzellen richtig ist. Nach der Auslegung des Verf. würden sich, so weit die Cajalschen Befunde einen Schluß zulassen, die Plasmamassen in der Ruhe mehr zusammenlagern als im Reizzustande. Verf. geht noch auf eine andere Möglichkeit der Artefaktbildung bei der Cajalschen Silbermethode ein. Es wird dieserhalb auf das Original verwiesen. Endlich bespricht er die Untersuchungen von Macallum über das Vorkommen von Kalium im Muskel- und Nervengewebe in Hinsicht darauf, daß sich Umwandlungsprodukte mit dem prüfenden Reagenz an anderer Stelle ablagern

als dort, wo sie für die richtige Beurteilung sein müßten. Auch dieserhalb wird auf das Original verwiesen.

Schiefferdecker (Bonn).

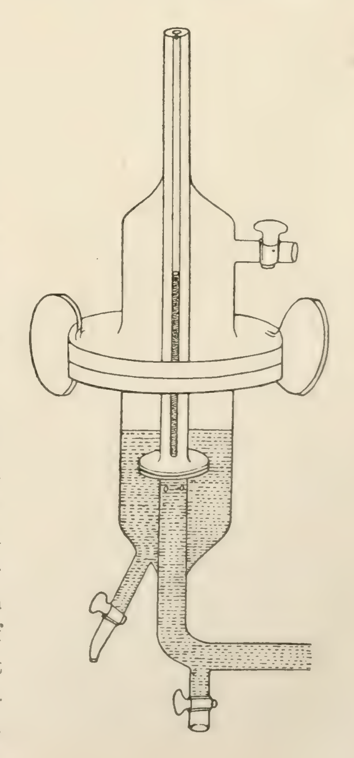
Suzuki, B., Eine einfache Schnittserienmethode bei der Celloïdineinbettung (Anat. Anzeiger Bd. XXXIV, 1909, No. 15, p. 358—361).

Verf. empfiehlt die folgende Methode: 1) Einbettung ganz wie gewöhnlich. Man läßt jedoch an den Seiten des Objektes etwas mehr Einbettungsmasse stehen als sonst direkt nötig ist. 2) Zur Anfertigung der Schnitte bereite man eine der Größe der Schnitte entsprechende flache, etwa 1 bis 1·5 cm tiefe Glasdose mit etwas Alkohol vor; man darf zuerst nicht viel Alkohol nehmen, sondern gießt mit steigender Anhäufung der angefertigten Schnitte nach und nach etwas Alkohol zu; so kann man dem Fortschwimmen und der Verwirrung der Schnitte vorbeugen. Nun schneidet man wie gewöhnlich; alle Schnitte werden mit Pinsel (oder Pinzette) in der Glasdose der Reihe nach gesammelt, so daß sie aufeinander zu liegen kommen. Je nach der Anzahl der Schnitte kann man auch mehrere numerierte Glasdosen nehmen. 3) Ist das Schneiden zu Ende geführt, so muß man die einzelnen Schnitte mit Pinsel und Tusche numerieren. Zu diesem Zwecke nimmt man eine kleine flache Glasschale, z. B. eine Petrische mit genügender Menge von Alkohol und eine Glasplatte von beliebiger Größe (z. B. einen Objektträger). Dann bringt man mit einer feinen Pinzette der Reihe nach einzelne Schnitte in die Schale und breitet jeden auf der Glasplatte mit Pinsel oder Pinzette aus. Dann nimmt man aus dem Alkohol die Glasplatte samt dem Schnitte heraus, drückt bloß die Ecke des Schnittes, wo die überstehende Einbettungsmasse sich befindet, mit mehrfach zusammengelegtem Filtrierpapiere ziemlich kräftig an, und wäscht dann den Alkohol ab. Dann nimmt man den Pinsel und schreibt mit der Tusche die betreffende Zahl auf den Eckteil des Celloïdins; dann wirft man den numerierten Schnitt in ein nebenstehendes Glas mit Alkohol. So fährt man fort, bis alle Schnitte numeriert sind. Diese Manipulation geht viel schneller als bei der Weigertschen Membranmethode oder der Aufklebemethode, ferner ist von Vorteil, daß man das Schneiden und Numerieren ganz getrennt ausführen kann. Man soll, wenn das Schneiden fertig ist, gleich das Numerieren folgen lassen. Die in dem Glase gesammelten Schnitte können so lange darin aufbewahrt werden, bis man sie weiter

verarbeiten will. Zum Schreiben der Ziffern bedient sich der Verf. der japanischen Tusche („Sumi"), die in kleiner Stangenform hergestellt wird (doch sind die chinesischen Tuschen auch sehr gut) und des Reibsteinchens („Suruki"); das letztere hat die Form einer eckigen Farbenschale aus Porzellan bei Aquarellmalerei. Man reibt diese Stangentusche tüchtig mit ein wenig Wasser auf dem Reibsteinchen. Die so erhaltene Farbe wird mit einem feinen und starren Pinsel auf Celloïdin aufgetragen; sie ist sehr widerstandsfähig gegen Säuren, Alkalien, Alkohol und Wasser und geht erst weg, wenn man sie mit der Fingerspitze abreibt. Da sie ganz schwarz ist, tritt die Ziffer sehr deutlich hervor. Bei den so numerierten Schnitten kann niemals eine Verwechslung der Fläche oder der Seite des Schnittes vorkommen. *Schiefferdecker (Bonn).*

4. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

A. Niedere Tiere.



Lendvai, J., Ein neuer Apparat zur Fixierung und Färbung der einzelligen Mikroorganismen (Állattani Közlemények Budapest, Bd. VIII, H. 1—2; Deutsch im Zentralbl. f. Bakteriol. Bd. XXIV, 1909).

Der Verf. strebte danach, daß er eine neue Einrichtung konstruiere, welche ermöglicht, daß die einzelligen Organismen jeder möglichen Fixier- und Färbungsmethode unterworfen werden können. Das ist ihm auch gelungen.

Die Einrichtung besteht aus zwei Glasglocken, welche mit ihren Rändern gegeneinander gekehrt hermetisch schließen. In die Glasglocken ist auf geeignete Weise ein Filtrierapparat appliziert, welcher aus einer Kapillarröhre, einer Filtrierplatte (Papier, As-

best) und einer gewöhnlichen Röhre besteht. Das Wesen der Wirksamkeit des Apparates besteht darin, daß er die Mikroorganismen mit Hilfe der Kapillarröhre aus den Kulturen aufsaugen läßt, dann mit Hilfe einer Pumpe durch die einfache Röhre und durch die Filtrierplatte das Wasser von ihnen abzieht. Rücklings spritzt er zu der Filtrierplatte diejenigen Flüssigkeiten, welche für die verschiedenen Fixierungen resp. Färbungen verlangt werden. Durch die Filtrierplatte dringt die Flüssigkeit mit der Kraft der Kapillarattraktion zu den Mikroorganismen hinauf. Die Filtrierplatte, welche aus satiniertem Papier oder Asbest besteht, kommt zwischen die scheibenartigen Endungen der Kapillarröhre und der gewöhnlichen Röhre. Der durch die zwei Glasglocken geschlossene Raum besitzt entsprechende Hähne, durch welche die Luft resp. die Flüssigkeit strömen können.

Der Apparat kann bezogen werden von Firma P. Altmann, Berlin, Luisenstraße 47. *Lendvai* (*Temesvár*).

Dakin, W. J., Striped muscle in the mantle of Lamellibranchs (Anat. Anzeiger Bd. XXXIV, 1909, No. 9—11, p. 227—230 m. 5 Figg.).

Verf. hat fixiert einmal in einer Mischung zu gleichen Teilen von Hermannscher Flüssigkeit und einer gesättigten wässerigen Lösung von Sublimat. Färbung mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain. Ferner in Zenkerscher Lösung. Färbung der Paraffinschnitte in folgender Weise: Die Schnitte kommen zuerst für 24 Stunden in eine 3prozentige Lösung von Kaliumbichromat, bis sie gelb sind. Abspülen in Wasser und Färben in einer 5prozentigen Hämatoxylinlösung. Die Zeitdauer variiert, je nach der Reifung des Hämatoxylins, die Schnitte sollen schwarz werden. Schnelles Abspülen in Wasser und Übertragen in eine 10prozentige wässerige Lösung von Kupferacetat für 60 Minuten. Differenzieren unter dem Mikroskope in der Weigertschen Differenzierungsflüssigkeit (Borax 2·0 g, Ferricyankalium 2·5 g, Wasser 100 cc), Auswaschen in fließendem Wasser. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Legendre, R., Contribution à la connaissance de la cellule nerveuse. La cellule nerveuse d'Helix pomatia (Arch. d'anat. microscopique t. X, 1908—1909, p. 287—554 av. 2 pl.).

Der Alkohol ist zur Fixierung der Nervenzellen von Helix und von den anderen Pulmonaten sehr ungünstig, ebenso der Essigsäure-

alkohol mit Sublimat von Gilson. Ebenso ist eine Sublimatessigsäurelösung und eine Sublimatkochsalzlösung ungünstig. Setzt man dagegen zu der letzteren nach Apáthy die gleiche Menge einer einprozentigen Osmiumsäurelösung, so erhält man stets ausgezeichnete Fixierungen. Formol in 10prozentiger Lösung für sich allein ist sehr ungünstig; Verf. hat dasselbe, ebenso ,wie den Alkohol, nur für die Imprägnationen angewendet. Formol-Essigsäure leistet nicht mehr, auch die Flüssigkeit von Bouin wirkt schlecht; ebenso die von Zenker und die von Rabl. Die Flüssigkeit von Tellyesnicky ist ebenfalls sehr wenig günstig für die Fixierung, wenngleich sie die Zellelemente wenig verändert. Alle die Flüssigkeiten haben den Fehler, den Zellen mehr oder weniger viel Wasser zu entziehen und deformieren sie daher. Dagegen erwiesen sich die Chrom-Osmiummischungen stets als sehr günstig für die Nervenzellen von Helix. Verf. hat angewendet die Flüssigkeiten von Flemming, Lindsay Johnson und von Laguesse, dieselben wirkten in dieser Reihenfolge immer günstiger. Nur kann man nach ihnen nicht alle Färbungen anwenden und auch weder die Nissl-Methode noch die Imprägnationen. Von Färbungen hat Verf. die gewöhnlichen benutzt: Hämatoxylin, Safranin, die basischen Anilinfarben. Ferner als Plasmafarben Eosin, Lichtgrün, Orange, Säurefuchsin. Von Doppelfärbungen hat Verf. hauptsächlich verwendet: Glychämalaun-Eosin; Eisenhämatoxylin (Benda) mit vorhergehender Färbung in Bordeauxrot oder mit nachfolgender Färbung in Eosin, Fuchsin-Orange oder Methyleosin und Lichtgrün (nach Prenant); Hämatoxylin-Eosin von Renaud; Phosphormolybdänsäure-Hämatoxylin von Mallory. Safranin mit Lichtgrün nach Benda ergab sehr gute Resultate. Ferner wurden noch verwendet: Methylenblau, Toluidinblau und Thionin allein oder mit Eosin. Diese letzteren Färbungen gelingen nur nach einer Fixierung mit Chromosmiummischungen. Außer diesen allgemeinen Methoden hat Verf. noch verschiedene besondere angewendet: so zum Studium der chromatophilen Substanz die Nissl-Methode, die von Lenhossék mit Toluidinblau und Thionin, die von Rosin mit Neutralrot. Am meisten empfiehlt Verf. die beiden Methoden von Lenhossék. Er hat nach spezifischen Methoden für die Färbung der Neurogiia gesucht. Die Methoden für die Bindegewebsfärbung von Curtis, Burchardt, Mallory erlaubten, das Bindegewebe, das die Scheide der nervösen Ganglien bildet, von den Elementen dieser Ganglien selbst zu trennen. Die Weigertsche Methode für die Neuroglia in der Modifikation von Benda (Hämatoxylin, van Gieson-

sche Mischung), die von Benda mit Kristallviolett, die von Mallory ergaben keine guten Resultate; dagegen erlaubte die Methode von Anglade, mit großer Feinheit die Anordnung der Neurogliafäserchen und ihre Beziehungen zu den Neurogliakernen und den Nervenzellen zu erkennen; leider fixiert sie die Nervenelemente schlecht und färbt auch das Bindegewebe. Zur Fibrillenfärbung hat Verf. ebenfalls sehr verschiedene Methoden versucht. Die Ehrlichsche Methode der Methylenblaufärbung und ebenso die Bethesche ergaben schlechte Resultate. Auch die Golgische Methode erwies sich ungünstig. Dasselbe gilt von der Hämateïnmethode IA von Apáthy und von der Goldmethode desselben Autors. Auch die Silbermethoden von Cajal in sehr verschiedenen Modifikationen ergaben keine Fibrillenfärbung, dagegen färbte die 6prozentige Silbernitratlösung bei vorhergehender Anwendung von ammoniakalischem Alkohol nach vier Tagen sehr scharf die Neuroglia. Auch das Silberlactat ergab nicht mehr. Die Methoden von Bielschowsky ergaben befriedigende Resultate (die aber inkonstant waren), wenn die 2prozentige Silbernitratlösung durch eine 6prozentige ersetzt wurde und die 0·5prozentige durch eine einprozentige. Die Methode von Moreno (1905), die darauf beruht, daß Silbernitrat in Gegenwart von Radiumbromid angewendet wird, ergab keine günstigen Resultate, doch konnte sich der Verf. davon überzeugen, daß das Radium dabei keine Rolle spielt. Auch die Methode von Rossi mit Platinnitrat ergab nichts. Ebenso die Methoden von Donaggio. Zum Studium der osmiophilen Körnchen hat Verf. die Methoden von Kopsch und Sjövall mit Osmiumsäure benutzt, die, wenn sie auch die Gewebe schlecht fixieren und dieselben sehr brüchig machen, doch sehr konstant und elektiv sind. Die Methode von Benda mit Kristallviolett zum Studium der Mitochondria ließ eine solche in den untersuchten Zellen nicht erkennen.

Schiefferdecker (Bonn).

Boule, L., Recherches sur le système nerveux central normal du Lombric (Le Névraxe vol. X, 1909, fasc. 1, p. 15—59 av. 28 figg.).

Um die Neurofibrillen zu imprägnieren, hat Verf. die folgenden Methoden angewendet:

Fixierungsflüssigkeit A:

Destilliertes Wasser	100 cc
Formol	25 „
Eisessig	5 „

Fixierungsflüssigkeit B:

Destilliertes Wasser	100 cc
Formol	25 „
Eisessig	5 „
Ammoniak	0·5 „

Fixierungsflüssigkeit C:

94grädiger Alkohol	100 cc
Formol	25 „
Eisessig	5 „
Ammoniak	0·5 „

Die Stücke bleiben in diesen Flüssigkeiten wenigstens 24 Stunden, dann Abwaschen in destilliertem Wasser etwa 15 Minuten lang und Imprägnation im Ofen bei 30 bis 35° mit der folgenden Silberlösung:

Destilliertes Wasser	100 cc
94grädiger Alkohol	15 „
Silbernitrat	3 g

Nach einem Aufenthalte von 5 bis 8 Tagen in dieser Lösung werden die Stücke schnell abgewaschen und in der folgenden Lösung reduziert:

Destilliertes Wasser	100 cc
94grädiger Alkohol	15 „
Formol	10 „
Hydrochinon	1 g

Hierin verbleiben die Stücke wenigstens 24 Stunden entweder bei Stubentemperatur oder im Ofen. Die Größe und das Alter des Tieres waren für die Färbung gleichgültig. Die besten Resultate ergab die Fixierungsflüssigkeit C bei Kopfstümpfen von ungefähr 7 mm Länge und 5 mm Durchmesser an der Basis.

Schiefferdecker (Bonn).

B. Wirbeltiere.

Cesaris-Demel, A., Über die morphologische Struktur und die morphologischen und chromatischen Veränderungen der Leukocyten auf Grund von Untersuchungen nach der Methode der Vitalfärbung des Blutes (Virchows Arch. Bd. CXCV, 1909, H. 1, p. 1—93 m. 2 Tfln.).

Obwohl Verf. von der Nützlichkeit der Methode der Frischfärbung und von der Möglichkeit überzeugt war, dabei verschiedene Farbstoffe anwenden zu können, hat er sich nach mehreren Versuchen auf eine einzige Methode beschränkt, welche sich immer vorzüglich bewährt hat und auch, wie er angibt, von allen anderen Forschern, die sich derselben bedient haben, als ausgezeichnet betrachtet wird. Diese Methode besteht in der gleichzeitigen Anwendung von Brillantkresylblau und von Sudan III. Das erstere, welches den besten in der Hämatologie für die Frischfärbung vorgeschriebenen Farbstoff darstellt, besitzt sehr empfindliche metachromatische Eigenschaften und läßt die feinsten Nuancen der chemischen Reaktion der Teile deutlich hervortreten, an welchen es sich fixiert. Das zweite stellt bekanntlich denjenigen Farbstoff dar, welcher am schnellsten und sichersten dem Fette eine spezifische Färbung erteilt. Diese beiden Farbstoffe müssen im trockenen Zustande ohne Lösungsmittel, resp. Suspensionsflüssigkeiten gebraucht werden, so daß sie sich direkt im Plasma lösen und sich an denjenigen Teilen fixieren, für welche sie eine Affinität haben. Verf. hat diese Methode früher ausführlich beschrieben. Diese Methode der Frischfärbung erlaubt zwar, morphologische und chromatische Veränderungen deutlich zu machen, die man mit den Methoden der Trockenfärbung nicht nachweisen könnte, kann diese letzteren aber nicht vollständig ersetzen. Beide Methoden haben ihre besonderen Indikationen. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Holmgren, E., Studien über die stofflichen Veränderungen der quergestreiften Muskelfasern (Skandinav. Archiv f. Physiologie Bd. XXI, 1908, p. 287—314 m. 11 Figg. im Text).

Besonders geeignet für diese Untersuchungen waren die Flügelmuskeln von Neuropteren: Aeschnia, Libellula, Cordulea und Sympetum. Will man Studien über die näheren stofflichen Veränderungen der Muskelfasern unternehmen, so muß man die allgemein benutzten Methoden, wie Alkohol, Hermannsche Flüssigkeit, Sublimat, Formol, Chromsäure fortlassen und die folgenden benutzen: Das Chromosmiumgemisch von Johnson (Kaliumbichromat, 2·5prozentige Lösung 70 Teile, Osmiumsäure, 2prozentige Lösung 10 Teile, Platinchlorid, einprozentige Lösung 15 Teile, Eisessig oder Ameisensäure 5 Teile) ist für den vorliegenden Zweck ausgezeichnet und wohl das beste. Dauer der Einwirkung 7 bis 8 Tage. Die starke Flemmingsche Flüssigkeit (Chromsäurelösung, einprozentig 15 cc, Osmiumsäurelösung, 2pro-

zentig 4 cc, Eisessig 3 Tropfen) liefert bei ebenso langer Einwirkung fast ebenso gute Resultate. Hervorzuheben ist, daß die nachfolgende Behandlung (Benda) mit: 1) Nach einstündiger Wässerung Acetum pyrolignosum rectificatum mit einprozentiger Chromsäurelösung zu gleichen Teilen während 24 Stunden und 2) 2prozentige Lösung von Kaliumbichromat während 24 Stunden mit nachfolgender 24stündiger Wässerung für eine gute Nachhärtung mit nachfolgender befriedigender Färbung notwendig ist. Verf. empfiehlt warm eine ähnliche Nachbehandlung nach der Fixierung mit der Flüssigkeit von Johnson, wobei zusammen mit dem Acetum pyrolignosum rectificatum nicht Chromsäure, sondern Kaliumbichromat zu verwenden ist. Die Schnitte müssen sehr dünn und gleichmäßig sein, nicht dicker als 3 bis 4 μ. Von Färbungsmethoden eignet sich sehr gut die mit Eisenhämatoxylin, auch die Bendasche Mitochondrienfärbung nach den neueren Angaben von Meves und Duesberg (Die Spermatocytenteilungen bei der Hornisse [Vespa crabro L.], Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXXI, 1908) kann wertvolle Dienste leisten. Bei der Konservierung verfährt Verf. so, daß er die Tiere am Abdomen festhält und die Flügelmuskeln durch Einstichinjektion in den dorsalen Teil des Thorax momentan fixiert. Die Flügel sind dabei noch in lebhafter Bewegung. Nach ein paar Minuten schneidet er den Thorax von dem übrigen Körper ab und entfernt unter Schonung aller Ansatzstellen der Muskeln so vollständig wie möglich die deckende Chitinhaut. Dann hängt er das so zu weiterer Fixierung vorbereitete Stück in einem Gazebeutel eingeschlossen in dem Fixierungsgefäße auf. *Schiefferdecker (Bonn).*

Regaud, Cl., et **Favre, M.,** Granulations interstitielles et mitochondries des fibres musculaires striées (C. R. Acad. sciences Paris t. CXLVIII, 1909, no. 10, p. 661—664).

Die Verff. haben die Muskelfasern der Kaninchenzunge in ausgedehntem Zustande mittels der folgenden Flüssigkeit fixiert: Die Stücke kommen 3 bis 4 Tage in eine 20prozentige Formollösung oder in eine Mischung von einer 3prozentigen Kaliumbichromatlösung 80 Prozent und Formol 20 Prozent, dann werden sie 8 bis 15 Tage lang in einer 3prozentigen Kaliumbichromatlösung gebeizt. Dann Färbung mit Eisenhämatoxylin und Bordeauxrot oder Ponceau. Es treten dann schwarze Fäden und Körner hervor, die zwischen den Fibrillenbündeln liegen und zur Mitochondria gehören.

Schiefferdecker (Bonn).

Pappenheimer, A. M., Über juvenile, familiäre Muskelatrophie. Zugleich ein Beitrag zur normalen Histologie des Sarkolemms (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XLIV, 1908, H. 3, p. 430—457 m. 2 Tfln.).

Sämtliche untersuchten Muskeln wurden in 10prozentiger Formollösung fixiert, in Celloïdin eingebettet und mit Hämatoxylin-Eosin oder nach van Gieson gefärbt. Von dem Zwerchfelle und dem Pectoralis wurden Stücke in einprozentiger Osmiumsäure fixiert und durch Zedernholzöl in Paraffin eingebettet. Von mehreren Muskeln wurden auch nach 24stündiger Fixierung in 10prozentiger Formollösung Gefrierschnitte mit Sudan gefärbt. Zur Darstellung der feineren Strukturveränderungen (Fibrillenfelderung usw.) wurden auch dünne Paraffinquerschnitte mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain gefärbt. Für die Darstellung der feineren Bindegewebsfibrillen ergab die folgende Modifikation der Bielschowskyschen Methode brauchbare Bilder. Nach Fixierung in Formol und Abspülen in destilliertem Wasser wurden dünne Scheiben im Brutofen bei 40° während 24 Stunden mit einer 1·5prozentigen Lösung von Silbernitrat imprägniert. Dann kamen die Stücke in eine ammoniakalische Silberlösung (10prozentige Lösung von Silbernitrat 5 cc, dazu werden 5 Tropfen einer 40prozentigen Natronlauge gesetzt, dann tropfenweiser Zusatz von Ammoniak bis zur Lösung des entstandenen Niederschlages), dann Auswaschen in destilliertem Wasser und Übertragen in 20prozentige Formollösung. Die Stücke wurden dann in Alkohol entwässert und durch Zedernholzöl in Paraffin eingebettet. Die schwarzbraunen Paraffinschnitte wurden zunächst in sehr verdünnter Goldchloridlösung mit einigen Tropfen Essigsäure im Dunklen differenziert, wobei die Bindegewebsfibrillen eine intensiv schwarze resp. braunschwarze Farbe erhielten, die Muskelfasern dagegen farblos oder nach längerer Vergoldung rötlich erschienen. Nach kurzer Fixierung in Natriumthiosulfat und Auswaschen in destilliertem Wasser, Kernfärbung mit Safranin. Die marklosen Nervenfasern und motorischen Endorgane ließen sich bei dieser Methode nicht mit Sicherheit von den zarten Bindewebsfibrillen unterscheiden. In Gefrierschnitten dagegen, nach derselben Methode behandelt, färbten sich die Nervenfibrillen gelegentlich braunschwarz, das Bindegewebe violett oder bläulich, so daß es in einigen Präparaten gelang, lehrreiche Bilder zu erhalten. Im allgemeinen war es aber nicht möglich, diese komplizierte Methode bei Gefrierschnitten anzuwenden. Die Darstellung der motorischen

Endorgane mittels anderer Goldmethoden (COHNHEIM, DASCH) ist nicht gelungen. Auch die Silberimprägnation nach CAJAL ergab nichts Brauchbares; entweder färbte sich das Bindewebe mit, oder die Nervenendigungen nahmen keine Imprägnation an. Für die Untersuchung des Rückenmarkes wurden außer der Färbung mit Hämatoxylin-Eosin und der nach VAN GIESON Schnitte nach WEIGERT-PAL gefärbt. Zur Darstellung der NISSL-Körper wurde eine einprozentige wässerige Thioninlösung mit Differenzierung durch Anilinölalkohol (1:10) benutzt. Stücke des Nervus cruralis und des Nervus medianus wurden in MÜLLERscher Flüssigkeit gehärtet und nach WEIGERT-PAL und MARCHI gefärbt. *Schiefferdecker (Bonn).*

Fischer, H., Myeloïsche Metaplasie und fötale Blutbildung und deren Histogenese. Berlin (J. Springer) 1909. 140 pp. brosch. 4 M.

Die für die Untersuchung benutzte Technik war folgende: Zur Darstellung der neutrophilen, basophilen und eosinophilen Granulationen im Schnitt Fixierung mit ZENKER-Formol und Formol-MÜLLER, Färbung nach Verf. eigner Methode mit Alaunkarmin-Eosin-Methylenblau, eigner Modifikation der Eosin-Methylenblaufärbung, nach dem Verfahren von SCHRIDDE mit Azur II-Eosin-Aceton, mit Triacidmischung. Für die Darstellung der Mast- und Plasmazellen Fixierung mit absolutem Alkohol, Formol, Formol-MÜLLER, Pikrinsäure, Sublimat; Färbung mit UNNAS polychromem Methylenblau, PAPPENHEIMS Karbol-Methylgrün-Pyronin, WESTPHALS Dahliälösung und Kresylviolett R-extra mit Alaunkarminvorfärbung. Ausstriche von fötalem Blute und fötalen Organen wurden gefärbt mit Lösungen nach MAY-GRÜNWALD, GIEMSA, Methylgrün-Pyronin. *O. Levy (Leipzig).*

Loos, O., Über die Ursachen des sogenannten Längerwerdens der Zähne bei fehlenden Antagonisten. Eine histologische Studie. Straßburg (J. H. Ed. Heitz) 1909; 70 pp. m. 2 Tfln.

Das Material wurde in folgender Weise verarbeitet: Fixierung der in distale und mesiale Hälfte geteilten Stücke in 10prozentiger Formollösung. Entkalkung in 5prozentiger Lösung von Salpetersäure in 10prozentiger Formollösung mehrere Wochen bis zur leichten Schneidbarkeit. (Dazwischen zwecks rascheren Durchdringens der Säure abermalige Teilung.) Entsäuern durch 24stündiges Einlegen in fließendes Wasser und ebenso lange in 5prozentige Natriumsulfit-

lösung. Wiederum Auswaschen. Zuerst fertigte Verf. nach dem Vorschlage von Reich nur Gefrierschnitte an, doch erwiesen sich später Celloïdinschnitte als vorteilhafter. Die Färbung mit Hämatoxylin-Eosin ergab die instruktivsten Bilder. In der Hoffnung, daß ein Vergleich dieser Präparate mit denen der Präzipitierungsmethoden weitere Aufschlüsse, namentlich bezüglich der osteoiden Säume und der Knochenkörperchen in den verschiedenen Schichten gewähren würde, wurde die Thionin-Pikrinsäuremethode von Schmorl besonders angewendet. Als Knochenkörperchenmethode erschien sie den anderen gleich, wenn nicht überlegen. Feinere Strukturbilder schien sie nur dann zu liefern, wenn die Differenzierung in 70prozentigem Alkohol zur Entfernung der Blaufärbung durch Thionin ausgedehnt und eine goldbraune Tönung erzielt wurde. In bezug auf die Darstellung der osteoiden Säume bot sie keine Vorteile gegenüber dem Hämatoxylin-Eosin, da auch bei ihr nur eine geringere Tiefe der Gelb-Braun-Färbung der ehemaligen, geringeren Verkalkungsdichtigkeit entspricht. Darin ist die Doppelfärbung mit Hämatoxylin-Eosin distinkter. Zur Formunterscheidung der Knochenkörper ist die Schmorlsche Methode geeignet, doch ist die Basis ihrer Deutung noch nicht hinreichend einwandfrei. *Schiefferdecker (Bonn).*

Lange, S. J. de, La méthode de Marchi (Le Névraxe vol. X, 1909, fasc. 1, p. 83—116 av. 25 figg. au texte).

Wenn man die Methode von Marchi zu kennen glaubt, so wird man doch leicht dadurch überrascht, daß sich Mängel herausstellen. Verf. hat daher eingehende Studien über diese Methode gemacht. Die Schädigung des Nervensystems muß frisch sein, im Minimum zwischen 7 bis 8 Tagen liegen, damit die Präparate gut werden. Bis zum 14. Tage erhält man sehr befriedigende Resultate, später werden die schwarzgefärbten Körnchen durch die Zirkulation der Lymphe mehr und mehr verteilt. Die beste Zeit liegt zwischen dem 10. und 14. Tage. Ferner ist die Todesart von Einfluß. Bei Tieren tötet man am besten durch Durchschneidung der Carotis. Dadurch wird auch eine Ansammlung von Blut im Gehirne vermieden, wie sie sich z. B. bei der Erstickung bildet. Durch eine solche wird aber eine bedeutende Verstärkung der Zirkulation der Lymphe herbeigeführt und dadurch wieder ein Verstreuen der Körnchen. Nach dem Tode muß man das Zentralnervensystem so schnell wie möglich und mit großer Vorsicht herausnehmen. Gehärtet wird zunächst in 10prozentiger Formollösung. Diese Härtung ist sehr

empfehlenswert, damit das Zentralnervensystem die nötige Festigkeit erhält, wenngleich das Formol stets eine Gefahr für die folgende Färbung bildet. Es kommt oft vor, daß das Formol nicht bis in die Mitte des Präparates eindringt, so daß die äußeren Teile hart werden, während die Mitte weich bleibt. Tritt dieses ein, so können die späteren Flüssigkeiten schwer eindringen. Verf. verwendet daher nach WINKLER für die beiden ersten Tage eine Mischung von MÜLLERscher Flüssigkeit und 10prozentiger Formollösung zu gleichen Teilen. Nach 2 bis 3 Tagen wird diese Lösung ersetzt durch reine MÜLLERsche Flüssigkeit, die mehrfach erneuert werden muß. Die so behandelten Präparate sind nach etwa 10 Tagen chromiert, bei sehr kleinen Objekten, wie z. B. Gehirn von Maus, erhält man schon nach 7 bis 8 Tagen befriedigende Ergebnisse. Die MÜLLERsche Flüssigkeit kann ersetzt werden durch eine 3prozentige Lösung von Kaliumbichromat, die man in derselben Weise mit der Formollösung mischen kann. Benutzt man die Formollösung allein, wie bei der Modifikation von BUSCH, so läßt man das Stück nur kurze Zeit in der Lösung. In dem Laboratorium von Prof. VAN GEHUCHTEN wird immer nur eine Kaliumbichromatlösung von 3 Prozent ohne Formol angewendet. Zu viel Osmiumsäure und besonders ein Aufenthalt im Ofen machen die Stücke brüchig. VAN GEHUCHTEN nimmt für die Osmiumbichromatmischung 4 Volumenteile der 3prozentigen Bichromatlösung auf einen Volumenteil einer einprozentigen Osmiumsäurelösung. Er trägt die in Celloïdin eingebetteten Schnitte auf Klosettpapier auf, wie bei der WEIGERT-Methode und entwässert sie einen nach dem anderen, wenn das ganze Stück geschnitten ist, indem er sie schnell in Schälchen mit 94prozentigem Alkohol, absolutem Alkohol, Bergamottöl, Xylol und Kanadabalsam bringt. Nach der Härtung und der Chromierung ist die wichtigste Manipulation die Imprägnierung mit der Osmiumsäure. Man kann auch, um Osmiumsäure zu sparen, 10 Teile MÜLLERscher Flüssigkeit auf einen Teil Osmiumsäure nehmen, dann muß man aber die Flüssigkeit längere Zeit einwirken lassen, und zwar in der Dunkelheit und in fest geschlossenen Gefäßen, die man auch bei 35° in den Ofen setzen kann. Die auf diese Weise gewonnenen Präparate sind nach Verf. gleichmäßiger gefärbt als die sonstigen. Die Modifikation der Methode von BUSCH kann sehr schöne Resultate geben, nur kann die vorherige Härtung in Formol schädigend wirken. Weit leichter anwendbar ist die Methode von RAIMANN. Man kann annehmen, daß die Imprägnierung mit der Osmiumsäure nach einem 10tägigen Aufenthalte in der Lösung, die öfter erneuert

werden muß, vollendet ist. Das Bild ändert sich auch nicht, wenn die Stücke noch einige Tage länger darin verbleiben, aber die Schnitte werden brüchig. Man muß die Flüssigkeit erneuern, wenn der Geruch der Osmiumsäure verschwunden ist. Nützlich ist es, von Zeit zu Zeit die Flüssigkeit umzurühren und die Stücke umzudrehen, damit alle Teile mit der Osmiumsäure in Berührung kommen. Nach diesen 10 Tagen legt man die Stücke für 24 Stunden in fließendes Wasser, dann für höchstens 24 Stunden in 20grädigen Alkohol, dann in solchen von 80 und 90°, schließlich in eine Mischung von absolutem Alkohol und Äther zu gleichen Teilen. In dieser Mischung werden die Scheiben aufeinander gelegt, um die ursprüngliche Form wieder zu bekommen und sorgfältig mit Fäden befestigt. Dann schließt man das Ganze in Celloïdin ein. Verf. hat niemals einen Unterschied gesehen zwischen Präparaten, die ohne Celloïdin in Wasser geschnitten wurden und solchen, die auf schnelle Weise mit Alkohol und Äther behandelt waren. Diese Methode erlaubt außerdem mit großer Leichtigkeit Serien herzustellen, während man ohne Celloïdin unmöglich solche herstellen kann, und doch sind die Serien unerläßlich, damit die Marchi-Schnitte anatomisch beweisend sind. Verf. bettet daher stets in Celloïdin ein. Die Schnittdicke wechselt bei den Präparaten des Verf. zwischen 25 und 40 μ, während van Gehuchten eine Dicke von 50 und 80 μ und selbst mehr vorzieht. Bei einer solchen Dicke ist es sehr leicht, keinen Schnitt zu verlieren und die Schnitte sind leicht zu handhaben. Die Schnitte werden einer nach dem anderen auf das Glas aufgeklebt und in Celloïdin getaucht, wenn man sie nicht noch besonders färben will. Sie bleiben noch durchsichtiger, wenn man sie mit Formol-Gelatine aufklebt, aber in diesem Falle ist es absolut unmöglich, sie später zu färben, da die Gelatine sich weit leichter und stärker färbt als das Nervengewebe und die Farbe fester hält. Wünscht man noch eine zweite Färbung anzuwenden oder eine Differenzierung vorzunehmen, so macht man lieber Zuckerplatten. Auf diese Weise kann man mehrere Schnitte auf einmal färben und behandeln, so als wenn es sich um einen einzelnen Schnitt handelte. Man hat als Kontrastfärbung Karmin verwendet, Verf. ist für diese Doppelfärbung nicht eingenommen. Mitunter verwendet man die Differenzierung nach Pal, wenn die Färbung zu dunkel geworden ist. Manche Autoren verwenden diese regelmäßig, da auf diese Weise nicht nur die Schwarzfärbung der nichtdegenerierten Nervenfasern verschwindet, sondern auch die kleinen schwarzen Kügelchen, besonders wenn man die Differenzierung stark

ausführt. Verf. hat gegen diese Differenzierung einzuwenden, daß man sie ganz subjektiv mehr oder weniger stark ausführt, was zu Irrtümern Veranlassung gibt. Muß man differenzieren, so soll man es nur leicht tun. Verf. bemerkt noch, daß man einmal um Verletzungen herum, die erst nach dem Tode entstanden sind, feine Körnchen finden kann, die aber keine Bedeutung haben, da man die Verletzungsstelle gleichzeitig erkennt. Zweitens findet man fast immer bei den Tieren eine feine Körnung in den Gehirnnerven, in den meisten Fällen in den Wurzeln der Gehirnnerven. Es handelt sich hier nicht um eine wirkliche Degeneration, sondern wahrscheinlich um kleine Myelinteilchen, die im Begriffe sind in den großen Lymphsack der Pia mater übergeführt zu werden. Findet man auf dem fertigen Schnitte, nachdem man in der angegebenen Weise vorsichtig verfahren ist, eine gewisse Anzahl von schwarzen Körnern, die man auf einer Reihe von aufeinanderfolgenden Schnitten wiederfinden kann, und die ein zusammenhängendes System darstellen und in Verbindung stehen mit der Verletzungsstelle, so hat man das Recht, von einer Wallerschen Degeneration zu sprechen. Möglicherweise findet man hier und da auch eine einzelne in Degeneration befindliche Faser, doch werden solche isolierte Fasern nur sehr selten von Bedeutung sein in bezug auf die anatomische Lokalisierung. In einem solchen seltenen Falle muß man dann die Versuche wiederholen. Die Hauptvorsichtsmaßregeln sind also die folgenden: 1) Man muß die Tiere ungefähr 12 Tage nach der Operation töten, die beste Zeit für die Methode liegt zwischen dem 10. und 14. Tage. 2) Man muß erwachsene Tiere nehmen und sie aseptisch operieren. Eine Entzündung, wie gering sie auch sei, kann zur Zerstörung von Nervenfasern Veranlassung geben, wodurch die Bilder ungenau werden; bei jungen Tieren kann man Marchi-Körnung finden, auch wenn sie ganz normal sind. 3) Man muß das Zentralnervensystem sehr sorgfältig von seiner knöchernen Umhüllung befreien: Es ist daher besser mit der Härtung schon zu beginnen, wenn das Zentralnervensystem noch in situ ist. 4) Man muß das Zentralnervensystem so schnell wie möglich nach dem Tode fixieren, damit die Zersetzung nicht Anlaß zur Entstehung von Körnchen gibt. 5) Bei der Verwendung von Formol muß man vorsichtig sein. 6) Man kann die Scheiben mit Osmiumsäure in großer Verdünnung (1 : 10) langsam imprägnieren oder die Schnitte innerhalb 24 Stunden mit derselben Lösung. 7) Es ist nötig die Präparate in Serien zu untersuchen, um die Verbindungen der Fasern mit der Verletzungsstelle nachweisen zu können, wenn

man Degeneration annehmen will. Für diesen Zweck ist die Anwendung von Celloïdin durchaus nötig. 8) Die Marchi-Körner, die eine Bedeutung für die anatomische Lage der degenerierten Fasern besitzen, sind große unregelmäßig geformte Stücke, die mit kleinen Unterbrechungen reihenweise liegen. Nur bei Anwendung dieser Vorsichtsmaßregeln kann man hoffen, konstante Resultate zu erhalten. Trotz aller dieser Vorsichtsmaßregeln aber ist es nach Verf. durchaus nötig mit der Nissl-Methode eine Kontrolle auszuüben. Man kann seiner Meinung nach ein System nur dann als sicher annehmen, wenn die Resultate der embryologischen Methode von Flechsig und die der Methode von v. Gudden mit den Marchi-Degenerationen, die durch die Nissl-Methode kontrolliert sind, übereinstimmen.

Schiefferdecker (Bonn).

Neubert, W., Über Glykogenbefunde in der Hypophyse und dem Zentralnervensystem (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XLV, 1909, H. 1, p. 38—88 m. 1 Tfl.).

Untersucht wurden menschliche Hypophysen, solche von Hammel, Kalb und Kaninchen. Die Hypophysen wurden nach Abkneifen der Processus clinoidei posteriores aus der Sella turcica mit Periostmeningen herausgelöst, frisch zumeist in drei Teile behufs verschiedenartiger Untersuchungen durch sagittale Schnitte zerlegt, der schmale mittlere mit dem Hypophysenstiel. Einige wurden sagittal halbiert. Die Fixierung eines Seitenteiles resp. einer Hälfte geschah in absolutem Alkohol, Einbettung in Celloïdin; je nach der Größe wurden Schnitte von 8 bis 15 μ Dicke angefertigt. Fixierung in einer Chromformollösung oder in Fluorchrom erwies sich als ungeeignet. Zur Darstellung des Glykogens wurde die Karminfärbung von Best verwendet (Zieglers Beiträge Bd. XXXIII, p. 587) unter Vorfärbung mit Hämatoxylin (Delafield) und Differenzierung in Salzsäurealkohol; nach der Waschflüssigkeit Übertragen in 96prozentigen Alkohol, Origanumöl; Einschließen in dicken Kanadabalsam, Trocknen auf erhitzter Platte. Vorfärbung mit Weigerts Eisenhämatoxylin erwies sich nicht als vorteilhaft, da die Intensität der Protoplasmafärbung der Zellen störte, außerdem, sozusagen, eine Beizwirkung auftrat, die alle Gewebe und vor allem das Fasergewebe des nervösen Teiles sich diffus rosa durch das Karmin färben ließ. Anderseits ergab sich für gewisse Schnitte ein noch zu erwähnender erhöhter Glykogennachweis. Für den Nachweis kam dem Verf. zustatten, daß bei

einer Reihe von Objekten infolge des Übertrittes von Tannin aus dem Holze der Blöcke in den Konservierungsalkohol die Protoplasmafärbbarkeit der Zellen allmählich litt, während die der Zellkerne allmählich so verändert wurde, daß sie durch Hämatoxylin statt blauviolett, hellblau gefärbt wurden. Alles Gewebe außer den Kernen erschien gelblich, so daß sich das Karminrot des Glykogens außerordentlich deutlich abhob. Die Darstellbarkeit dieses litt in keiner Weise. Bindegewebe, das sich sonst zum Teile intensiv rot färbte, erschien nur leicht rosa. Sodann wurden noch Reaktionen mit Jodgummi (Gummi arabicum mit Jodtinktur bis zum dunkelbraunen Aussehen) angestellt und Speichelproben. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Da Fano, C., Über die feinen Strukturveränderungen der motorischen Kernzellen infolge verschiedenartiger Verletzungen der zugehörigen Nerven (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XLIV, H. 3, 1908, p. 495—525 m. 3 Tfln.).

Verf. hat versucht die feinen Strukturveränderungen der Nervenzellen in den motorischen Nervenkernen nach verschiedenartigen Verletzungen des Nerven festzustellen. Untersucht wurde meist an Kaninchen, aber auch an Hunden und Katzen. Von Gehirnnerven wurde meistens der Hypoglossus gewählt. Die Tiere wurden in bestimmten Zwischenräumen von 24 Stunden bis zu 107 Tagen getötet. Zur Untersuchung wurde die Silbermethode von Cajal mit vorhergehender Fixierung in ammoniakalischem Alkohol benutzt. Für das verlängerte Mark benutzte Verf. die Methoden von Cajal, Donaggio und Nissl. Die Stücke direkt in Silbernitrat zu fixieren, war nach Versuchen des Verf. nicht praktisch, da sich in den Zellen der verletzten Seite leicht Niederschläge bildeten, die den Eindruck hervorriefen, als ob die Fibrillen verschwunden seien, während sie doch vorhanden waren. Die vorhergehende Fixierung in Ammoniakalkohol ergab dagegen viel bestimmtere Resultate, zeigte viel leichter die vorhandenen Fibrillen und gab wenig oder gar keine Niederschläge. Da diese Niederschläge doch nicht vollständig vermieden werden konnten, besonders für die Zellen der verletzten Seite, so erfand Verf. die folgende Modifikation: Er setzte sowohl bei der Bereitung der Silbernitratlösung wie bei der Lösung des Reduktionsbades dem destillierten Wasser eine Lösung von 1:1000 reinster Gelatine zu, die er durch mehrmaliges Auswaschen in Wasser von jeder Spur von Salzen befreit hatte, die Resultate waren sehr günstig. Ob Verf.

die Stücke gleich in Silbernitrat (1·5prozentige Lösung) und Gelatine (1:1000) brachte oder ob er eine vorhergehende Fixierung in einer 3prozentigen Lösung von Silbernitrat in Ammoniakalkohol und nachfolgendes Einlegen in eine 3prozentige Lösung von Silbernitrat mit Gelatine (1:1000) und dann als Reduktionsbad eine Lösung von Hydrochinon 2prozentig in Gelatine (1:1000) anwandte, er erhielt stets viel bessere Präparate, als wenn er die Silbernitratlösung und die Hydrochinonlösung in destilliertem Wasser benutzte. Besonders vorteilhaft war die zweite Modifikation, durch welche die Niederschläge fast ganz vermieden werden können und durch die man vortreffliche Bilder von ungewöhnlicher Klarheit erhält. Verf. bemerkt ausdrücklich, daß er mit dieser Modifikation der Cajalschen Methode bisher nur Versuche über die Zellen des Kernes des Hypoglossus gemacht hat und im allgemeinen über die Zellen des verlängerten Markes des Kaninchens. Er will noch weitere Versuche machen, um festzustellen, ob diese Modifikation sich auch vorteilhaft für die anderen Teile des Gehirnes und Rückenmarkes anwenden läßt. Was die Methoden von Donaggio betrifft, so bemerkt Verf., daß er die dritte vorteilhafter gefunden hat, wenn er nach der Färbung die Schnitte in eine Lösung von Ammonium molybdaenicum übertrug. In einigen Fällen fand er es nützlich, sich des „ergänzenden Verfahrens“ von Donaggio zu bedienen, um besonders die Fibrillen deutlicher in jenem Zeitpunkte darzustellen, in welchem infolge der aufgetretenen Veränderungen in den Zellen der verletzten Seite sich der Grund der Zellen dunkler als im normalen Zustande färbte. Verf. erwähnt dann noch eine Erscheinung, welche er konstant in allen seinen Versuchen fand, und welche für die Verwertung der Resultate wichtig ist: Sowohl bei der Methode von Cajal wie bei der von Donaggio geht die Färbung des Netzwerkes der Zellen der verletzten Seite in einem bestimmten Zeitpunkte besonders schwierig vor sich, während der Grund eine mehr oder weniger dunkle Färbung annimmt. Es ist alsdann für die Methode Cajals nötig, die Zeit des Einlegens in Silbernitrat, für die Methode von Donaggio, die Zeit der Färbung zu verlängern. Es gibt eine zweite und längere Periode, in welcher die Färbbarkeit der Neurofibrillen der verletzten Seite zugenommen hat. Man muß dann das Einlegen in Silbernitrat abkürzen und die Schnitte nur so lange in Thionin lassen als nötig ist, um eine gute Differenzierung der Zellen der verletzten Seite zu erzielen. Wenn man mit diesen Erscheinungen nicht rechnet, ist es nicht allein fast unmöglich, gute Präparate zu

erhalten, sondern man läuft Gefahr, Veränderungen im fibrillären Apparate zu erhalten, welche nichts anderes sind als die Folgen einer mangelhaften Technik. Es ergibt sich hieraus, daß es unmöglich ist, immer und gleichzeitig im gleichen Präparate eine gute Färbung der Zellen der verletzten und der der gesunden Seite zu erhalten. Es empfiehlt sich vielmehr, zum Vergleiche normale Präparate zur Verfügung zu haben. *Schiefferdecker (Bonn).*

Kató, H., Eine neue Neurofibrillenfärbung (Folia Neuro-Biologica Bd. II, 1908, No. 3, p. 262—264).

Verf. gibt eine neue Silbermethode mit Anwendung des Argentamins an: 1) Das möglichst frisch herausgenommene Nervengewebe wird in 10- bis 15prozentiger Formollösung fixiert und aufbewahrt. 2) Am nächsten Tage oder beliebig später kommen die möglichst dünnen Blöcke (etwa 5 mm) je nach ihrem Volumen für einen bis 5 Tage im Ofen bei etwa 35° in die nächste Lösung; diese wird in folgender Weise hergestellt: zu 5prozentiger Argentamin-Lösung (150 cc) wird 3prozentige frische Silbernitrat-Lösung hinzugesetzt und im Meßzylinder gemischt. Es erscheint eine weiße Trübung, die sich bald klärt, während ein Überschuß von Argentamin in der Mischung vorhanden bleibt. Sobald der Niederschlag sich bildet, wird er durch erneuten Zusatz von Argentamin zum Schwinden gebracht. Die Lösung muß stets einen minimalen Überschuß von Argentamin enthalten. Dann filtrieren. Anstatt der eben genannten wurde auch die folgende Lösung versucht:

Argentamin	8—10·0
Kaliumbichromat, einprozentige Lösung	30·0
Destilliertes Wasser	100·0.

Die Färbung ist bei beiden Lösungen die gleiche, doch ist die zweite weniger sicher. 3) Wenn das Stück sich braunschwarz gefärbt hat (also nach einem bis 5 Tagen), wird es, nachdem es einige Minuten lang in destilliertem Wasser ausgewaschen ist, auf einige Tage in die folgende stark reduzierende Lösung übertragen:

Hydrochinon	1·0
Formol	10·0
Destilliertes Wasser	100·0.

Dann Entwässerung des Stückes in steigendem Alkohol, Paraffineinbettung, Schnitte von 3 μ Dicke. Die Hauptvorzüge der Methode

sollen die folgenden sein: 1) Das Resultat ist ein sicheres. Die Methode ließ den Verf. bei Gehirnen des Menschen, des Hundes, der Katze und des Kaninchens niemals im Stiche. 2) Wie bei der Bielschowskyschen Methode können die Fibrillen dargestellt werden, nachdem das Gewebe längere Zeit in der Formollösung gelegen hat. Dadurch wird eine Nachprüfung ermöglicht. 3) Die Schrumpfungsvorgänge, die sich bei den Methoden von Cajal und Bielschowsky fast stets finden, werden ziemlich gut vermieden. 4) Es wird Zeit gespart. *Schiefferdecker (Bonn).*

Röthig, P., Zur Darstellung der Zellgruppierungen im Zentralnervensystem (Folia Neuro-Biologica Bd. II, 1909, No. 4, p. 385—388).

Für das Studium der Anatomie des Zentralnervensystems, sowohl in deskriptiver wie besonders in vergleichend-anatomischer Hinsicht spielt die Untersuchung der Zellanordnung eine wichtige Rolle. Früher besaß man in der Karminmethode ein ausgezeichnetes Verfahren hierfür, jetzt ist diese nicht mehr verwendbar. Die Imprägnationsmethoden sind zu launenhaft. Verf. hat ein Verfahren gefunden, das eine Ganglienzellenfärbung nur auf Grund einer Durchfärbung der Objekte gestattet, ohne nachträgliche Differenzierung. Als Farbstoff hierfür dient das Methylenazur I (Grübler u. Co., Signatur No. 0203). Es kann die Färbung nach zwei Methoden vorgenommen werden, die in ihren Resultaten insofern voneinander abweichen, als es zwar bei beiden zu einer distinkten Zellfärbung, bei der zweiten aber außerdem noch zu einer Metachromasie zwischen Kern und Protoplasma kommt. Methode I: Methylenazur I wird in 10prozentiger wässeriger Formollösung bis zur Konzentration gelöst; dabei soll die 10prozentige Formollösung neutral oder schwach alkalisch sein. Diese konzentrierte Lösung, die immer vorrätig gehalten werden kann, wird zum Gebrauche mit 10prozentiger Formollösung zu gleichen Teilen verdünnt. In diese Lösung kommt das Objekt ohne vorherige Fixierung und wird nach 12 bis 24 Stunden, nachdem es eine gewisse Festigkeit erhalten hat, in Scheiben zerlegt, die 4 Wochen oder länger in der Farblösung liegen bleiben. Die Zeit richtet sich nach der Größe des Objektes und nach der Dicke der Scheiben. Für kleine Gehirne (Ratte, Maus) genügen 4 Wochen. Dann werden die Stücke auf Fließpapier flüchtig von der anhaftenden Farbflüssigkeit befreit und für kurze Zeit (10 bis 15 Minuten) in chemisch reines Aceton, dann für 12 Stunden in

Chloroform gebracht. Dann Paraffineinbettung in gewöhnlicher Weise. Entfernung des Paraffins der Schnitte mit Xylol, Kanadabalsam. Alle Zellen sind gefärbt und die Präparate zeigen die verschiedenen Zellformen und ihre Anordnungen in klarer Weise. Methode II: Bei dem eben geschilderten Verfahren kommen die Objekte überhaupt nicht mit Alkohol in Berührung, auf dessen Ausschaltung, besonders als Differenzierungsfaktor, von manchen Seiten besonderer Wert gelegt wird. Bei dieser zweiten Methode findet eine geringe Alkoholeinwirkung statt. Der Alkohol dient zur Unterstützung der Fixierung, nicht zur Differenzierung. Verf. verwendet zur Fixierung eine Substanz, die bisher noch nicht in der histologischen Technik benutzt worden ist, das Trichlorbleiacetat (Merck, Darmstadt). Er stellt eine bei Zimmertemperatur gesättigte wässerige Lösung von Trichlorbleiacetat her, die vorrätig gehalten wird. Zur Fixierung wird diese Lösung mit 96prozentigem Alkohol vermischt:

Trichlorbleiacetat, konzentrierte wässerige Lösung	10·0
Alkohol, 96prozentig	20·0

Hierin bleibt das Objekt (z. B. Gehirn der Maus) erst unzerschnitten, dann in Scheiben zerlegt, bis zu 4 Tagen. Die Färbeflüssigkeit besteht aus einer zu gleichen Teilen mit destilliertem Wasser verdünnten, konzentrierten, wässerigen Methylenazurlösung. In diese gelangen die fixierten Objekte, nachdem sie ganz kurz in destilliertem Wasser abgespült sind, für ungefähr 3 Wochen. Die Zeit richtet sich nach der Größe des Objektes und nach der Dicke der Scheiben. Dann chemisch reines Aceton, dessen Einwirkungszeit bis auf 2 Tage ausgedehnt werden kann, dann 12 Stunden in Chloroform, dann Paraffineinbettung in gewöhnlicher Weise, Aufkleben der Schnitte mit Eiweißglyzerin, Entfernung des Paraffins durch Xylol, absoluter Alkohol für möglichst kurze Zeit, so daß er nicht differenzierend wirken kann, Xylol, Kanadabalsam. Schöne klare Zellfärbung, gegenüber der früheren Methode Auftreten einer Metachromasie zwischen Kern und Protoplasma, von denen der erstere blau, das letztere rötlich erscheint. Wie Verf. bemerkt, entwickeln sich manchmal in dem Objekte und in der Färbungsflüssigkeit Pilze, man wird versuchen müssen, diese auf irgendeine Weise auszuschalten. Verf. hat seine Methode bisher ausprobiert an dem Gehirne von Axolotl, Ratte und Maus. Selbstverständlich kann man das Methylenazur auch zur Schnittfärbung verwenden. Fixiert man das Zentralnervensystem in Alkohol und färbt die Paraffinschnitte nach Entfernung

des Paraffins kurze Zeit in der konzentrierten wässerigen Lösung des Farbstoffes oder längere Zeit nach Verdünnung dieser konzentrierten wässerigen Lösung mit destilliertem Wasser und spült nach der Färbung nur so lange in Alkohol ab als nötig ist, um das Präparat für den Aufenthalt in Xylol wasserfrei zu machen, so erhält man Präparate, welche den Kresylviolett-Präparaten an Schönheit in nichts nachstehen. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Cajal, S. Ramón y, Les conduits de Golgi-Holmgren du protoplasma nerveux et le réseau péricellulaire de la membrane (Trav. labor. Rech. biol. Univ. Madrid t. VI, 1908, fasc. 3, p. 123—135 av. 6 figg.).

Verf. hat eine neue Methode angegeben, um verschiedene Dinge in und an der Nervenzelle darzustellen, so die Kanälchen von Golgi-Holmgren und das perizelluläre Golgi-Netz, endlich auch Bindegewebszüge an der Adventitia der Blutgefäße. — Methode: 1) Die Stücke des Nervensystemes (oder auch solche von epithelführenden Organen wie Darm, Drüsen usw.) kommen für 24 bis 48 Stunden in die folgende Mischung:

Formol	50 cc
Aceton	50 „

Mitunter hat Verf. auch einen bis 2 Tropfen Ammoniak zugesetzt. 2) Auswaschen in Wasser während 4 bis 6 Stunden, um das Formol zu entfernen, dann Übertragen der Stücke, die nicht dicker als 3 mm sein dürfen, in ammoniakalischen Alkohol:

Absoluter Alkohol	50 cc
Ammoniak	5—7 Tropfen.

3) Hierin bleiben die Stücke 24 Stunden. Dann schnelles, einige Sekunden dauerndes Abwaschen in destilliertem Wasser und Übertragen für 4 bis 5 Tage in eine 2prozentige Lösung von Silbernitrat im Thermostaten bei 35°. 4) Dann von neuem rasches Abwaschen der Stücke in destilliertem Wasser, um sie von dem oberflächlich ansitzenden Silbernitrat zu befreien, dann Übertragen in das Pyrogallol-Formolbad (Wasser 100, Acidum pyrogallicum 1, Formol 5) für 24 Stunden. Die Färbung ist eine sehr starke, falls die Dicke der Stücke nicht zu groß ist; sie tritt nicht nur beim erwachsenen Tiere ein, sondern auch bei jungen Säugetieren (so bei Hund, Katze, Kaninchen, Pferd usw.). Im allgemeinen ist die Färbung konstanter

und stärker bei den großen Tieren (Katze, Hund) als bei den kleinen (Kaninchen). Das Silbernitrat wird nur niedergeschlagen in den in dem Protoplasma enthaltenen Kanälchen, in den feinen Bindegewebsbündeln der Adventitia der Kapillaren (und in dem interstitiellen Bindegewebsgerüste des glatten Muskelgewebes, der Drüsen, der Nerven usw.) und bisweilen auch in dem perizellulären Golgi-Netze der Nervenzellen. Man erhält die besten Präparate am Kleinhirne, am Großhirne, am Rückenmarke, an der Netzhaut, an den Drüsen und Eingeweiden. In bezug auf die Kanälchen von Golgi-Holmgren hat diese Methode den Vorteil, daß sie dieselben auf einmal bei einer großen Anzahl von Zellen darzustellen erlaubt, und daß sie sich für alle Teile des Zentralnervensystemes und für die meisten Epithelien eignet. Im Gegensatze zu der Methode von Golgi und zu der von Kopsch gibt sie in den Spinalganglien nicht so gute Bilder wie im Zentralnervensysteme. *Schiefferdecker (Bonn).*

Savini, E., u. Savini, Th., Ein neues Verfahren zur Nervenzellenfärbung (Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenkunde u. Infektionskrankh. Abt. 1, Bd. XLVIII, 1909, p. 697—701).

Die Verff. haben versucht die mancherlei Schwierigkeiten bietende Färbemethode von Nissl durch eine andere bequemere zu ersetzen. Wie sie mitteilen, haben sie diesen Zweck nicht nur erreicht, sondern die Resultate scheinen sogar noch bessere zu sein. Sie sind von der Romanowsky-Färbung ausgegangen und haben dabei die von Proca in Bukarest angegebene Art der Bereitung der Methylenblaulösung benutzt: man nimmt eine etwa 200 bis 250 cc fassende, mit nicht zu dünnen Wänden versehene Flasche einer solchen Glassorte, welche beim plötzlichen Übertragen aus heißem in kaltes Wasser und umgekehrt nicht platzt, wozu sich am besten Jenenser Glas eignet. Der Stopfen aus Kork oder Kautschuk muß sehr gut schließen. Man schüttet 1 g Methylenblau med. pur. der Höchstfarbwerke, 4 g Borax puriss. cryst. (man vermeide alten verdorbenen Borax, nur gute Kristalle sind anzuwenden) und 100 cc destillierten Wassers hinein; die Flasche wird ohne Stopfen in ein Wasserbad gestellt, welches ganz allmählich zum Sieden gebracht wird, und verbleibt darin etwa 30 Minuten; dann und wann (etwa alle 5 bis 10 Minuten) wird sie herausgenommen, verschlossen und unter einem kalten Wasserstrahle dauernd und kräftig geschüttelt, bis der Inhalt erkaltet ist, aber inzwischen wird der Stopfen öfters abgehoben, damit die Luft frei hinzutreten kann, dann wird die Flasche von neuem in das

siedende Wasserbad hineingebracht. Die Gesamtheit des Verbleibens im Wasserbade soll etwa 30 bis 40 Minuten betragen. Die anfänglich gut blaue und verhältnismäßig dünne Farbflüssigkeit erhält nun allmählich einen violetten Farbenton und nimmt einen gewissen Grad von Viskosität an, was beides bei einiger Übung leicht beim Schütteln erkannt wird. Um die Flüssigkeit auf ihre Brauchbarkeit zu prüfen, färbt man ein Blutpräparat, wobei das Chromatin der Leukocytenkerne schön rotviolett erscheinen muß. Geschieht das noch nicht, so muß die Farblösung wieder ein paar Minuten (5 bis 10) in derselben Weise wie oben behandelt werden. Während des Erwärmens entweicht zwar die Luft aus der Flüssigkeit, durch das nachträgliche Erkalten unter kräftigem fortwährendem Schütteln wird dieselbe aber von der Farbflüssigkeit sehr gierig wieder aufgenommen, und an diesem Aufsaugen der Luft durch die erkaltende, aber immer noch warme Flüssigkeit erkennt man die Stärke des stattfindenden Oxydationsprozesses, der es ermöglicht, in kurzer Zeit eine reife Farblösung zu erhalten. Dieser Oxydationsprozeß darf aber nicht so weit fortgesetzt werden, bis die Lösung eine stark rötliche oder sogar eine rote Farbe annimmt; dann ist nämlich die Grenze schon längst überschritten und die Farblösung überhaupt nicht mehr brauchbar, es handelt sich um eine im Werden begriffene Oxydationsstufe. Auf diese Weise erzielt man das von Nocht so genannte „Rot aus Methylenblau“, dessen Vorhandensein sich durch Schütteln mit Chloroform leicht feststellen läßt, wobei das sich absetzende Chloroform sehr intensiv rotviolett erscheint. Es bildet sich zwar aus Methylenblau durch Oxydation auch eine gewisse Menge von Methylenviolett, welches für die Färbung ungeeignet ist, aber daneben auch eine beträchtliche Menge von Azur, worauf eben die Chromatinfärbung beruht. Die Farblösung muß immer vor dem Gebrauche filtriert werden, sie besitzt eine starke Färbekraft: Bakterien und tierische Zellen werden in kurzer Zeit recht gut gefärbt und geben schöne und klare Bilder. Mit dieser Boraxmethylenblaulösung haben die Verff. nun bei der Nissl-Färbung sehr schöne Resultate erzielt. Sie verfahren in folgender Weise: Die Einbettung der Stücke geschieht am besten in Celloïdin. Die einzelnen Schnitte werden gleich nach dem Schneiden auf numerierten Papierblättern aufgefangen und vor der Färbung kurze Zeit in 96prozentigem Alkohol aufbewahrt. Bei der Auswahl des Papieres haben die Verff. festgestellt, daß die verschiedenen Sorten von Klosettpapier nicht geeignet waren. Sie haben pergamentartige Papiere benutzt, unter denen in erster Linie das

sogenannte „Palmetto-Papier“ zu nennen ist. Dasselbe ist hinreichend stark und nimmt die Flüssigkeit sehr schlecht auf, so daß es genügend steif bleibt und schwer zerreißt. Dadurch wird die Handhabung besonders bei größeren Schnitten sehr erleichtert und die Integrität der Schnitte und das Ausbreiten derselben usw. gesichert. Jetzt behandeln die Verff. auf diese Weise auch die kleineren Schnitte, auch die des Rückenmarkes. Auch gute Pergamentpapiere, die in verschiedenen Stärken zu haben sind, sind brauchbar, das „Palmetto-Papier“ ist aber das beste. Bei dem Herausnehmen aus dem Alkohol wird das Papierblatt mit dem Schnitte senkrecht gehalten und der Alkoholüberschuß am unteren Rande desselben schnell durch Fließpapier aufgesaugt, ohne aber den Schnitt im geringsten antrocknen zu lassen. Dieser wird sofort an die Oberfläche der Farblösung gebracht, und zwar so, daß der Schnitt auf der Oberfläche schwimmt, und daß das Papier durch sanftes Drücken untersinkt. Die Verff. verwenden die Boraxmethylenblaulösung zu diesem Zwecke meist halb verdünnt (gleiche Teile von Farblösung und von destilliertem Wasser), da dies scheinbar die besten Resultate liefert. Das Färbebad wird nicht so stark erwärmt, wie Nissl es angibt, sondern nur bis zur deutlichen Dampfbildung, etwa 2 Minuten lang. Die Differenzierung in Anilinalkohol geht hier etwas langsamer vor sich, doch warnen die Verff., bei dieser, wie überhaupt bei jeder Differenzierung, sich auf die Angabe von Minuten und Sekunden zu verlassen, das einzige sichere und zuverlässige Mittel ist die Überwachung der Differenzierung unter dem Mikroskope. Sobald der gewünschte Grad erreicht ist, wird das Präparat mit Fließpapier abgetrocknet, mit Cajeputöl aufgehellt, dann mit Benzin wiederholt gewaschen und endlich in Benzinkolophonium eingeschlossen. Sehr schöne und auch dauerhafte Präparate haben die Verff. auch mit dem Verfahren von Rosin mittels gesättigter Neutralrotlösung erhalten. Sie verwenden jetzt stets die drei Verfahren: das von Nissl, das mit Boraxmethylenblau und das mit Neutralrot. Falls aber der Schnitt zu stark überfärbt ist und die Differenzierung zu langsam vor sich geht, geht man zweckmäßigerweise folgendermaßen vor: Der Schnitt wird aus dem Differenzierungsbade auf den Objektträger gebracht, gut ausgebreitet, mit Fließpapier abgetrocknet, dann mit Cajeputöl übergossen, wieder abgetrocknet und von neuem mit Anilinalkohol behandelt. Dieses Abwechseln des Anilinalkohols mit Cajeputöl auf dem Objektträger, das im Notfalle wiederholt werden kann, befördert die Differenzierung sehr. Dann wird das Präparat in der gewöhn-

lichen Weise weiter behandelt. Eine sehr gute Differenzierung erzielt man auch ohne Erwärmen einfach dadurch, daß man die Schnitte in der mit der 2- bis 3fachen Menge destillierten Wassers verdünnten Boraxmethylenblaulösung mehrere Stunden (über Nacht) stehen läßt. Dies hat noch den Vorteil, daß viele Schnitte in demselben Färbebade auf einmal gefärbt werden können. Die stark überfärbten Schnitte werden nachher differenziert, am besten in der schon angegebenen Weise durch abwechselnde Behandlung mit Anilinalkohol und Cajeputöl; die Färbung ist sehr kontrastreich. Die Nissl-Körperchen lassen sich auch mit der Boraxmethylenblaulösung immer nur rein blau, niemals metachromatisch färben. Die Färbung gelingt nur an Material, das in Alkohol fixiert ist; das in Chrom fixierte, wie z. B. das für die Weigertsche Markscheidenfärbung, läßt sich zwar färben, aber die Differenzierung gelingt immer schlecht, da die chromophilen Elemente dem Entfärbungsprozesse keinen stärkeren Widerstand zu leisten vermögen als das übrige Gewebe, die Färbung ist daher keine elektive. Es ist wohl anzunehmen, daß die Verbindung des Methylenblaues mit dem Borax eine Kombination oder einen physikalischen Zustand darstellt, welcher kolloïdale Eigenschaften und eine spezielle Neigung für die chromophilen Elemente der Nervenzellen besitzt, gerade wie der Nissl-Farbstoff. Will man das Boraxmethylenblau zur Romanowsky-Färbung nach Proca verwenden, so muß man gleichzeitig auch eine Eosinlösung von 1 : 1000 haben. Am besten haben sich die wasserlöslichen Eosine BA und AG, besonders das erstere der Höchster Farbwerke bewährt; da aber die Eosinlösung von 1 : 1000 nicht lange haltbar ist, so verwendet man am besten als Vorratslösung eine Lösung von 1 : 100 in destilliertem Wasser, aus welcher sich die andere zum Gebrauche für einige Tage leicht herstellen läßt. Die Verff. haben meistens nur Eosin BA angewendet. Man gießt in ein 10 cc haltendes Meßglas zuerst 8 cc der Eosinlösung von 1 : 1000 und setzt mit Hilfe einer Pipette genau 2 cc von der frisch filtriertem Boraxmethylenblaulösung zu, gießt die Mischung sofort in ein kleines Erlenmeyer-Kölbchen, schüttelt sie gut um und gießt sie in eine Uhrschale; alles dies muß sehr schnell geschehen. Die mit absolutem Äthyl- oder Methylalkohol fixierten und dann getrockneten Deckglaspräparate läßt man während 10 Minuten auf der Oberfläche der Farblösung mit der Blutschicht nach unten schwimmen, nachdem man zuerst das metallische Häutchen des Farbgemisches mit Fließpapier entfernt hat. Für Blutpräparate genügen 10 Minuten, für Bakterienfärbung,

wenn es sich darum handelt, für ihre feinere Struktur eine befriedigende Färbung zu erzielen, muß das Präparat 15 Minuten lang im Färbebade bleiben. Befindet sich das Präparat nicht auf dem Deckglase, sondern auf einem Objektträger, so gießt man die Farblösung einfach darauf. Dann wird das Präparat aus dem Färbebade herausgenommen, sehr schnell mit einer Essigsäurelösung von 2 bis 4 : 1000 und ebenso schnell mit 96prozentigem oder absolutem Alkohol zum Zwecke der Differenzierung und Entfernung der Niederschläge abgespült und endlich gut mit destilliertem Wasser nachgespült, mit Fließpapier abgetrocknet und in neutralem Kanadabalsam oder in dickem Zedernöl eingeschlossen. Die Präparate sind sehr schön: das Chromatin der Zellen und der Blutparasiten erscheint schön rotviolett gefärbt. Diese Färbung eignet sich sehr gut für Blut bei verschiedenen Krankheiten desselben, ferner für Blutparasiten, wie bei Malaria, Trypanosomiasen usw. Zu bemerken ist, daß das Ektoplasma der Bakterien immer ungefärbt bleibt. Der Niederschlag, der beim Mischen der Boraxmethylenblaulösung und der Eosinlösung entsteht, erscheint hier später, ist spärlicher und wird durch das Nachspülen mit Essigsäure und Alkohol sehr gut entfernt. Das Gemisch muß aber nur ganz kurze Zeit, am besten unmittelbar vor dem Gebrauche, hergestellt werden. Die Eosinlösung sowohl wie insbesondere auch die Boraxmethylenblaulösung müssen in hermetisch verschlossenen Flaschen im Dunklen an einem kühlen Orte und vor sauren Dämpfen geschützt aufbewahrt werden, dann bleiben sie lange brauchbar.

Schiefferdecker (*Bonn*).

Kadyi, H., Eine Methode zur Färbung der grauen Substanz des Gehirnes und Rückenmarkes nach Beizung mit dem Uranacetat (Verh. d. 10. Vers. der polnischen Naturforscher u. Ärzte in Lemberg, Juli 1907, Bericht in Folia Neuro-Biologica Bd. II, 1908, No. 1, p. 148—149).

Verf. hat eine Methode zur Färbung der grauen Substanz im polnischen Archiv der biologischen und med. Wissenschaften Bd. I, p. 55, veröffentlicht, bei der sich indessen noch im Präparate rosa Streifen und Flecken fanden. Die letzteren sind von Spuren des zurückgebliebenen Formols abhängig, und man kann sie vermeiden, wenn man die Schnitte aus Formol vor der Beizung in schwach alkalischen Lösungen auswäscht. Die günstigsten Bedingungen für

die Färbung der grauen Substanz sind gegeben beim Übergange der schwach alkalischen Reaktion der Karminlösung in eine schwach saure, bzw. umgekehrt, während die weiße Substanz sich erst dann mitfärbt, wenn die Karminlösung ausgesprochen sauer reagiert. Anstatt des käuflichen Natrium carminicum (Apotheke von Bloch in Breslau) kann man eine selbstgefertigte Lösung anwenden; man verreibt 1 g Karmin mit 0·5 g Kalilauge und verdünnt mit destilliertem Wasser auf 100 cc. Nach einiger Zeit scheidet sich das überschüssige Karmin aus. Diese Lösung wird, auf 1:10 oder auf 2:10 verdünnt, zur Färbung benutzt. Die neue Vorschrift ist also jetzt im ganzen die folgende: die in Formol gehärteten Stücke werden mit dem Gefriermikrotome geschnitten (100 bis 200 μ Schnittdicke). Sie können nachher unbegrenzt lange in 5prozentiger Formollösung aufgehoben werden. Vor der Färbung kommen die Schnitte auf einige Stunden in eine Kalilauge von 5 pro mille. Die Flüssigkeit wird gewechselt und man überträgt die Schnitte in eine einprozentige Lösung von Uranacetat mit Zusatz von einprozentiger Essigsäure; in dieser verbleiben die Schnitte einige Minuten bis zu einigen Stunden. Um eine ausschließliche Färbung der grauen Substanz zu erzielen, werden die Schnitte entweder direkt in die angegebene Karminlösung gebracht, oder vorher auf mehrere Stunden in eine schwache Kalilösung (1:1000 bis 1:5000), und erst dann in dieselbe, jedoch neutralisierte Karminlösung gebracht. Nach der Färbung kommen die Schnitte in Wasser, das mit Essigsäure leicht angesäuert ist. Einbettung in Gelatine, Glyzeringelatine oder Kanadabalsam. *Schiefferdecker (Bonn).*

Lewy, F. H., Degenerationsversuche am akustischen System des Kaninchens und der Katze. [Zugleich ein Beitrag zur Anwendung der Marchischen Methode] (Folia Neuro-Biologica Bd. II, 1909, No. 5, p. 471—518 m. 23 Figg. u. 4 Schemata).

Verf. bespricht in dieser Arbeit eingehend die Fehlerquellen und Fehlergrenzen der Marchi-Färbung. Färbt man frisches Nervengewebe mit Osmium, so wird es schwarz, behandelt man es indessen vorher mit Chrom, so tritt an Stelle der Schwärzung eine gleichmäßige bräunliche Markscheidenfärbung ein, die sich zur Betrachtung normaler Präparate eignet. Färbt man dagegen auf die gleiche Weise Stücke, die eine, z. B. infolge von Durchschneidung, in Markscheidenzerfall begriffene Bahn aufweisen, so tritt an diesen Stellen,

wie Pierre Marie[1] fand und Marchi bestätigte, wieder Schwarzfärbung, und zwar jetzt in Schollen auf. Diese Tatsache wurde rein empirisch festgestellt. Eine hinreichende chemische Erklärung der Färbung ist trotz der Arbeit von Neubauer[2] noch nicht vorhanden. Während die Weigert-Färbung und die Karminfärbung degenerierter Systeme eine objektive Beschreibung des Befundes gestatten, bedarf die Marchi-Methode der kritischen Beobachtung. Daher wurden über die Fehler dieser Färbemethode schon mehrere Arbeiten geschrieben, die sich aber ausschließlich auf die Fehler der Technik und der Vorbehandlung beschränken. Über eine der wesentlichen Schwierigkeiten der Marchi-Methode, das Vorkommen und die Beurteilung echter Degenerationen an Stellen, wo sie scheinbar nicht hingehören, hat Verf. in der Literatur noch nichts gefunden. Die Voraussetzung für die Erzielung guter Marchi-Präparate ist eine zweckmäßige Technik. Die von Lewandowsky genau beschriebene Technik ist immer noch die einfachste und beste. Das vorsichtig herausgenommene und auf Watte gelegte Gehirn wird 24 bis 36 Stunden lang in 10prozentiger Formollösung gehärtet. Dann wird es ohne Auswässerung in eine 3prozentige Lösung von Kaliumbichromat übertragen, bleibt hierin einige Tage in oft gewechselter Flüssigkeit und wird dann in ein bis 2 mm dicke Scheiben zerlegt. Diese werden innerhalb von einer bis 4 Wochen an einem Faden in Osmium aufgehängt. Zweifellos werden die Bilder weit schöner, wenn die Osmiumfärbung schnell beginnt, aber im Betriebe eines Laboratoriums läßt sich das nicht immer machen, da man nicht immer in der Lage ist, operativ gewonnene Präparate gleich weiter zu bearbeiten. Da kann man die Stücke dann auch monatelang, allerdings besser nur in 2·5prozentiger Lösung von Kaliumbichromat, liegen lassen, da sie sonst zu hart werden. Für die weitere Bearbeitung ergibt das weiter keine großen Schwierigkeiten. Ein mehrtägiger Aufenthalt der Stücke dagegen in Formol kann die Färbbarkeit fast völlig vernichten. Zur Färbung wird von einer einprozentigen Osmiumsäurelösung ein Teil mit zwei Teilen einer 3prozentigen Lösung von Kaliumbichromat gemischt und in diese nicht zu knapp zu nehmende Mischung werden die Stücke hineingehängt. Nach einer Woche muß Osmiumsäure (etwa ein Drittel der ursprünglich verwendeten Menge) ohne Kaliumbichromat nachgegossen

---

[1]) Sainton, Rev. neurol. 1900.

[2]) Neurol. Zentralbl. 1902; vgl. diese Zeitschr. Bd. XX, 1903, p. 44.

werden, jedenfalls so viel, daß der Geruch wieder ein kräftiger ist. Nach 14 Tagen bis 3 Wochen, je nach Größe und Dicke der Blöcke (1 bis 2 mm), kann man ein weniger wichtiges Stück probeweise weiter behandeln. Es kommt in fließendes Wasser (wenn möglich) auf 24 bis 48 Stunden, bis jeder Osmiumgeruch geschwunden ist, dann für 24 Stunden in 96prozentigen Alkohol. Die so gehärteten Stücke werden mit Fließpapier kurz abgetrocknet und mit dünnflüssigem Celloïdin auf neuen Korken aufgeklebt. Dieses letztere Verfahren hat sich dem Verf. besonders bewährt, ein Federn des Korkes hat er nie gesehen, und da es bei der Dünnheit der Blöcke oft darauf ankommt, auch nicht den kleinsten Krümel des nicht absolut planparallel zur Messerschneide eingestellten Stückes zu verlieren, ist es ein großer Vorteil, auch einmal die Unterlage mitschneiden zu können, ohne vor jedem Schnitte erst den Block zuschnitzen oder das Mikrotommesser opfern zu müssen. Die aufgeklebten Stücke werden in gewöhnlicher Weise in 70prozentigem Alkohol aufbewahrt und nach 24 Stunden mit Alkohol in etwa 60 μ dicke Schnitte zerlegt, die mit Klosettpapier aufgefangen in 96prozentigem Alkohol entwässert und in Karbolxylol aufgehellt werden. Auf dem Objektträger trocknet man sie mit leicht angedrücktem Fließpapier und gießt dicken Kanadabalsam darüber, der in einer bis 2 Wochen genügend trocken und hart ist. Man spart damit das Deckglas und konserviert auch die Färbung besser, die durch das Xylol, das unter dem Deckglase nicht schnell genug verdunsten kann, ausgezogen wird. So behandelte Präparate besitzen eine große Haltbarkeit. Es ist nicht so sehr von Bedeutung, welche von den angegebenen Modifikationen der Färbung man anwendet, als wie man sie anwendet, d. h. wie man auf die Einzelheiten einer jeden von ihnen gerade eingearbeitet ist. Unzweckmäßig ist die Färbung in der Wärme, denn die Durchtränkung geht kaum schneller vor sich, die Stücke aber werden hart und bröcklig und lassen sich nur mit großer Mühe und vielen Defekten schneiden; die Präparate zeigen unverhältnismäßig viele Niederschläge. Ein Verschleppen der Schollen im Gewebe läßt sich übrigens nicht nachweisen. Leben die Tiere nach der Operation länger, so kann man außer der zellulifugalen auch zentripetale Degenerationen erwarten. Man kann etwa von der dritten Woche an, bei motorischen Hirnnerven etwas früher, bei langen Bahnen, z. B. der Sehstrahlung, wesentlich später, mit retrograden Degenerationen rechnen. Die verschiedenen Tiere sind übrigens gegen Abweichungen von den Vorschriften der Technik verschieden

empfindlich: ein Katzengehirn kann ohne Schaden bedeutend mehr malträtiert werden als das eines Kaninchens und der Affe erfordert besonders vorsichtige Behandlung. Ein schönes Präparat zeigt die scharf abgegrenzten einzelnen schwarzen Schollen auf gutdifferenziertem gelbbraunem Grunde. Auch ein gutes Präparat wird gelegentlich hier und da, vor allem an bestimmten Stellen, einzelne Schollen zeigen. Wo aber für die Degeneration nur solche Faserzüge in Betracht kommen, die sich in ihrer Totalität geschwärzt verfolgen lassen, darf man Marchi-Präparate nur mit schwachen Vergrößerungen betrachten (40- bis 80malige Vergrößerung). Bei stärkeren Vergrößerungen kann man eventuell auch osmiumgeschwärzte Teile finden, die nicht zur Marchi-Färbung gehören (Fettsubstanzen der Ganglienzellen und ihrer Kerne). Mehr wie bei jeder anderen Methode muß man bei der Marchi-Färbung darauf dringen, nur solche Bahnen als beweiskräftig im Sinne einer echten und direkten Degeneration zu betrachten, die von der Unterbrechungsstelle aus in ununterbrochener Serie verfolgt werden können. Einzelne Fasern können keinen Anspruch auf Verfolgbarkeit und damit auf Anerkennung als direkte Degenerationen erheben. Verf. widerspricht dann den Angaben Winklers, daß nach 14 Tagen sich in der Regel das sekundäre System des geschädigten Axons schwärzt, und daß man am Studium der sekundären Bahn mittels der Marchi-Methode nur dadurch gehindert würde, daß nach 14 Tagen die Markschollen schon zu diffus ins Gewebe verschleppt wären. Daß das letztere nicht der Fall ist, wurde oben schon erwähnt. Verf. hat aber überhaupt im zweiten Axon Degenerationen mit der Marchi-Methode niemals nachweisen können, vorausgesetzt natürlich, daß nicht gleichzeitig eine Verletzung im Kerne dieses Axons stattgefunden hat; auch Lewandowsky hat dieses in langjährigen Erfahrungen bestätigt gefunden. Einige Stellen weisen auch am normalen oder nur allgemein geschädigten Tiere besonders leicht Marchi-Degenerationen auf, so die Wurzeln der Hirnnerven und das hintere Längsbündel. Verf. hat aber auch beobachtet, daß einige Bahnen eine gewisse Disposition zu besitzen scheinen, auf Verletzungen oder Degenerationen in ihrer Umgebung mit selbständiger Schollenbildung im ganzen Verlaufe ihres Systems zu reagieren: so die Vierhügelvorderstrangbahn, das Monakowsche Bündel, das Thomassche Faisceau de crochet, der Fasciculus reticulospinalis, der Flocculusstiel und andere Bahnen. — Als eine besondere Eigentümlichkeit beschreibt Verf. die folgende: Wird ein Hirnnerv peripher durchtrennt und gelangt er

zur Degeneration, so ist das Osmiumbild des extra- und intramedullären Verlaufes ein ganz verschiedenes: bis etwa 0·5 mm an das verlängerte Mark heran ist der Nerv diffus, kleinkörnig schwarz gefärbt. Das Bild entspricht etwa einer retrograden Degeneration, nirgends eine deutliche Scholle, sondern alles von gleichmäßiger grau-schwarzer Färbung. Dann schneidet dieser Farbenton mit scharfer Grenze und leichter Einschnürung des Nerven ab, und es beginnt in das verlängerte Mark hinein die gewöhnliche Degeneration. Die scharfe Grenze der beiden Färbungen entspricht der Gegend, wo die SCHWANNschen Scheiden aufhören. Verf. führt noch eine andere besondere Beobachtung an, derentwegen auf das Original verwiesen wird. — Verf. kommt schließlich zu dem Satze: Die MARCHI-Methode kann zwar leicht zuviel, aber nie, soweit es sich um lange Fasersysteme handelt, zuwenig zeigen; man kann sie also als eine Maximalfärbung der Karmin- und WEIGERT-Methode gegenüberstellen, die eine Minimalfärbung darstellt, d. h. was mit dieser degeneriert erscheint, ist mindestens vorhanden, während die zu rechter Zeit angewandte MARCHI-Methode die größte Menge degenerierter markhaltiger Fasern zeigt. Man darf daher auch nicht die GUDDENsche und die MARCHIsche Methode generell auf ihre Güte vergleichen: jede ist an ihrer Stelle angebracht und hat auch ihre Nachteile. Bei alten Herden, also der Mehrzahl der am Menschen zur Beobachtung kommenden Fälle, wird die richtig angewendete Karminfärbung, die infolge des gewahrten Zusammenhangs von Zelle und Faser dem relativ groben, aber zur Übersicht geeigneten WEIGERT-Präparate entschieden überlegen ist, richtig sein; für experimentelle Eingriffe beim Tiere, wo man sich die Behandlungszeit wählen kann, ist aber die schnell arbeitende MARCHI-Methode vorzuziehen. Der kritische Beobachter soll sich immer vor Augen halten, daß das, was die GUDDENsche Methode degeneriert zeigt, absolut sicher vorhanden, umgekehrt das, was bei der MARCHIschen Methode nicht geschwärzt ist, ebenso sicher nicht vorhanden ist.

Schiefferdecker (Bonn).

Lentz, O., Über spezifische Veränderungen an den Ganglienzellen wut- und staupekranker Tiere. Ein Beitrag zu unseren Kenntnissen über die Bedeutung und Entstehung der NEGRIschen Körperchen (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. LXII, 1908, H. 1, p. 63—94 m. 1 Tfl.).

Zur Färbung verwandte Verf. hauptsächlich die von ihm beschriebene Eosin-Methylenblau-Färbung (Zentralbl. f. Bakteriol. Bd. XLIV, H. 4) ohne Jodbeizung (Methode A). Zuerst hatte er die Mannsche Methylblau-Eosin-Doppelfärbung benutzt, die auch später, ebenso wie die Heidenhainsche Hämatoxylinfärbung mit nachfolgender Eosinfärbung zur Kontrolle mit herangezogen wurde. Verf. bemerkt noch besonders, daß sich in der Literatur über die Negrischen Körperchen besonders in jüngster Zeit die irrtümliche Angabe findet, daß zur Mannschen Färbung ein Methylenblau-Eosin-Gemisch verwandt wird, tatsächlich muß aber ein Methylblau-Eosin-Gemisch verwandt werden. *Schiefferdecker (Bonn).*

Rößle, R., u. Yoshida, T., Das Gitterfasergerüst der Lymphdrüsen unter normalen und pathologischen Verhältnissen (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XLV, 1909, H. 1, p. 110—126 m. 1 Tfl.).

Von jeder Lymphdrüse wurden Schnitte mit Hämatoxylin-Eosin, Weigerts Eisenhämatoxylin und Nachfärbung nach van Gieson und drittens nach der von Maresch für die Darstellung der Gitterfasern empfohlenen Bielschowsky-Methode gefärbt. Die Hämatoxylin-Eosin-Präparate gaben im wesentlichen Aufschluß über die zellige Zusammensetzung der Drüsen; die Färbung nach van Gieson diente zum Nachweise des kollagenen Bindegewebes. In der ersten Zeit verwendeten die Verff. Frostschnitte, später aber für alle drei Färbungen Paraffinschnitte, da bei diesen der starke Ausfall an zelligem Materiale und die mechanischen Verletzungen des feinen Gerüstes fortfielen. Überall da, wo im richtig behandelten Maresch-Präparate die Fasern braun sind, müssen in dem nach van Gieson gefärbten Schnitte rötliche Bündel vorhanden sein. Von dem prächtigen schwarzen Gitterwerke der lymphoiden Substanz, der Sinus, der Kapillarwände ist dagegen in dem Hämatoxylin-Eosin-Präparate und im Gieson-Präparate nichts oder kaum etwas zu sehen, der scharfe Unterschied von braunen (kollagenen) und schwarzen (Gitter-) Fasern ist ein Maßstab für das gelungene Maresch-Präparat. Die Gitterfasern haben mit den elastischen Fasern nichts zu tun und sind daher auch durch die Färbemethoden für elastische Fasern nicht darstellbar. Auch mit der Weigertschen Markscheidenmethode, welche Dürck für seine den elastischen Fasern sehr nahestehenden „Telegraphendrahtfasern“ anwandte, kommen die Gitterfasern nicht zum Vorscheine. Zwischen den Dürckschen Fasern und den elasti-

schen Fasern scheint ein ähnliches Verhältnis zu bestehen, wie zwischen den Gitterfasern und dem kollagenen Bindegewebe. Bezüglich der Imprägnationstechnik für die Gitterfasern der Lymphdrüsen kann man sich an die Vorschriften von Bielschowsky und Maresch halten. An Lymphdrüsen, die nicht zu lange in Formol aufbewahrt wurden, muß die Methode immer gelingen. Auf der ammoniakalischen Silbernitratlösung sollen die Schnitte nicht über 15 bis 30 Minuten schwimmen. *Schiefferdecker (Bonn).*

Boehm, P., Über den feineren Bau der Leberzellen bei verschiedenen Ernährungszuständen; zugleich ein Beitrag zur Physiologie der Leber. Beiträge zur Physiologie der Drüsen. 10. Mitteilung von Leon Asher (Zeitschr. f. Biologie Bd. LI, 1908, H. 4 m. 1 Tfl.).

Untersucht wurde an weißen Ratten. Wegen der Versuchsbedingungen wird auf das Original verwiesen. Die Tiere wurden durch Chloroform getötet und Leberstückchen aus den verschiedenen Leberlappen entnommen und in die Fixierungsflüssigkeiten gebracht. Als solche wurden benutzt: Alkohol, Zenkersche Flüssigkeit, konzentrierte Pikrinsublimatlösung und Pikrinosmiumessigsäure. Einbettung in Paraffin. Die zum Teil 10 μ, zum Teil weniger dicken Schnitte wurden mit 40prozentigem Alkohol auf dem Objektträger aufgeklebt. Gefärbt wurde mit Ehrlichs Triacid, Hämalaun-Eosin, sowie nach der Heidenhainschen Eisen-Hämatoxylinmethode.

Schiefferdecker (Bonn).

Retterer, Éd., Amygdales et follicules clos du tube digestif [développement et structure] (Journ. de l'Anat. et de la Physiol. Année XLV, 1909, no. 3, p. 225—275 av. 2 pl.).

In seinen früheren Untersuchungen hat Verf. nachweisen können, daß die Bildung von geschlossenen Lymphfollikeln das ganze Leben fortdauert, also auch beim erwachsenen Tiere vor sich geht. Der Prozeß ist dabei analog demjenigen, der sich während des fötalen Lebens und im jugendlichen Alter vollzieht. Verf. hat daher seine Untersuchungen beim erwachsenen Tiere fortgesetzt. Er wählte die Mandeln des Pferdes. Die Pferde, welche in Paris geschlachtet werden, sind etwa 15 bis 20 Jahre alt; die Mandeln wurden noch ganz warm in Zenkerscher Flüssigkeit fixiert. Was die geschlossenen

Follikel anlangt, so hat Verf. die PEYERschen Plaques nicht wieder gewählt, da die in ihnen enthaltenen Epithelkrypten die Resultate nicht eindeutig erscheinen lassen. Er hat die geschlossenen solitären Follikel gewählt, wie man sie konstant im Mastdarme des erwachsenen Meerschweinchens findet. Um den Einwurf einer schlechten Ernährung auszuschließen, wurden 6 Monate alte Meerschweinchen 4 bis 5 Wochen lang sehr reichlich ernährt. Nach Fixierung in ZENKERscher Flüssigkeit, Auswaschen in Wasser, Härtung in Alkohol, wurde das Material in Serienschnitte von 6 μ Dicke zerlegt. Gefärbt wurde auf verschiedene Weise: 1) mit Eisenhämatoxylin, 2) mit einer Methode, die dem Verf. bei der Untersuchung von Knorpel und Knochen ausgezeichnete Resultate ergeben hatte: Die Schnitte bleiben 24 Stunden in Alaunkarmin, kommen dann für eine Viertelstunde bis 30 Minuten in Fuchsin-Resorcin, dann Auswaschen in Alkohol, dann in Wasser, dann mehrstündige Färbung in einer Alaunhämatoxylinlösung; endlich zur Entfärbung für einige Minuten in Wasser, dem einige Tropfen Pikrin-Salzsäure zugesetzt sind. Dann gründliches Auswaschen, Entwässerung, Einschluß in Kanadabalsam. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Kolster, R., Weitere Beiträge zur Kenntnis der Embryotrophe. III. Über den Uterus gravidus von Rangifer tarandus H. SM. (Anat. Hefte H. 114 [Bd. XXXVIII, H. 1], 1908, p. 105—192 m. 8 Tfln.).

Da die Konservierung des Materials ungeübten Händen überlassen werden mußte, war ein möglichst einfaches Verfahren zu wählen. Die einmal eingelegten Präparate mußten dabei wenigstens so lange in der Fixierungsflüssigkeit liegen, bis sie aus Finnisch-Lappland in Helsingfors ankamen. Dabei war bestimmt darauf zu rechnen, daß auf dem weiten Wege ein einmaliges oder auch vielleicht ein mehrmaliges Gefrieren des Materials eintreten würde. Dazu kam, daß die Fixierung eine möglichst vielseitige Verarbeitung erlauben sollte, und daß das Placentargewebe an sich schon schwer zu konservieren ist. Es wurden daher eine Reihe von Versuchen vorgenommen. Es ergab sich, daß eine 10prozentige Formollösung die Anforderungen am besten erfüllte. Als Testobjekt war die Beschaffenheit von Mitosen gewählt worden. Für placentares Gewebe ist aber die 10prozentige Formollösung auch sonst ein vorzügliches Konservierungsmittel: sie dringt auch in große Stücke schnell ein, und erlaubt das fixierte Material in verschiedener Weise weiter zu verarbeiten; selbst große, uneröffnete Fruchtsäcke werden nebst dem

in ihnen enthaltenen Embryo vorzüglich konserviert, wenn nur darauf geachtet wird, daß in dem verwandten Gefäße eine genügende Menge der Fixierungsflüssigkeit Platz findet. In Formol fixierte Präparate erlauben einen späteren Fettnachweis nicht nur an Gefrierschnitten durch Scharlachrot, sondern auch durch spätere Osmierung. Ein Nachteil gegenüber Präparaten, die von vornherein in osmiumhaltigen Flüssigkeiten fixiert worden sind, liegt darin, daß Färbungen der Schnitte erschwert sind, und daß daher nicht die Eleganz von Flemming-Präparaten, die mit Safranin gefärbt worden sind, zu erreichen ist. Dafür ist aber auch die erhaltene natürliche Lagerung, da ein Zerschneiden des frischen Materials in kleine Stücke nicht nötig ist, von großer Bedeutung. Für das Studium der Placenta ist ferner ein guter Erhaltungszustand des Hämoglobins von großer Bedeutung. Es ist in dieser Hinsicht gegen die Verwendung des Formols Einspruch erhoben worden, nach Verf. mit Unrecht, denn er hat an Material, welches länger als fünf Jahre in Formol gelegen hatte, noch einzelne ausgewanderte Blutkörperchen tadellos mit Eosin färben können. Seiner Meinung nach ist gerade die Erhaltung des Hämoglobins ein großer Vorzug des Formols. Auch für den mikrochemischen Eisennachweis sind in Formol eingelegte Präparate sehr geeignet. Die Fixierung in Formol erlaubt genau dieselben Resultate zu erzielen wie die in Schwefelammoniumalkohol nach Hall, nur sind die Gewebe bei Anwendung von Formol besser erhalten. Gewöhnlich wurde der Eisenreaktion mit Ferricyankalium und Salzsäure eine Färbung mit Boraxkarmin vorausgeschickt. Ein schwacher Punkt unserer heutigen mikroskopischen Technik liegt darin, daß es bisher nicht gelungen ist, in Gewebsschnitten eine ebenso scharfe Färbung der verschieden gegen Farbgemische reagierenden Granula zu erzielen wie an Ausstrichpräparaten. Für Blutpräparate hat kürzlich Weidenreich eine sehr brauchbare Formolfixierung angegeben. Dem Verf. hat von allen Fixierungsflüssigkeiten in dieser Hinsicht gerade das Formol die besten Dienste geleistet. Es wurden besonders verwendet Eosinlösungen, aber auch die Romanowskysche Färbung in der von Giemsa angegebenen Modifikation. Die letzteren Präparate werden indessen bald entfärbt. Gewöhnlich wurde gefärbt mit dem Eisenhämatoxylin von Hansen, welches je nach Wunsch zu einer reinen Kernfärbung oder auch zu einer gleichzeitigen Protoplasmafärbung verwendet werden kann und verschiedene Nachfärbungen erlaubt. Zu solchen wurde besonders Eosin verwendet, und zwar in der Form einer schnellen Überfärbung

mit starken Lösungen, welcher eine Differenzierung in 80prozentigem Alkohol folgte, oder in Form progressiver Färbung mit stark verdünnten Lösungen. Beide Methoden ergeben eine isolierte Färbung des Hämoglobins und der acidophilen Granula. Auch das Heidenhainsche Hämatoxylin wurde verwendet, doch verleiht es den Schnitten von Formolmaterial eine schmutziggelbe Grundfarbe. Sie war aber nicht zu vermeiden, da sie in dem vorliegenden Falle gewisse Zellen mit sehr dichtem Protoplasma deutlich gegen die Umgebung hervortreten ließ. — Für die photographische Wiedergabe sind rote Färbungen von Osmiumpräparaten im ganzen ungünstig, weil auch bei Verwendung besonderer Lichtfilter nur schwache Differenzierungen zwischen rot und schwarz zu erzielen sind. Dagegen ist eine grüne Nachfärbung sehr vorteilhaft. Da an osmierten Präparaten eine Darstellung der Kerne nicht so notwendig ist, wenn das Osmium nur zum Nachweise von Fett dienen soll, so hat Verf. nur Lichtgrün zur Kontrastfärbung verwendet, er ist aber der Meinung, daß bei einer genaueren Prüfung der verfügbaren Farben sicher auch eine Färbung sich finden wird, die die photographische Wiedergabe von Präparaten mit weit mehr Detail ermöglicht. — Über die Brunstzeit hat Verf. nur erfahren, daß diese im Herbste eintrete und recht lange währe. Was die Tragzeit anlangt, so sollen gegen Ende April schon die ersten Jungen geboren werden; die eigentliche Geburtsperiode fällt aber in den Mai und Juni. Dem würde also wohl auch eine ungefähr zweimonatige Brunstperiode entsprechen, welche sich der Zeit nach aus Angaben über das Verhalten des Renntieres in Norwegen berechnen läßt. Nach Brehm dauert dort die Tragzeit 30 Wochen und werden die Jungen gegen Mitte April geboren, also früher als in Finnisch-Lappland. Die Brunst in Norwegen soll gegen Ende September einsetzen. Da die Tragzeit wohl in Norwegen und Finnland die gleiche ist, darf man annehmen, daß diese in Finnland mit einer etwas später beginnenden Brunst verbunden ist, welche in den Oktober und November fallen würde. Mit einer solchen längeren Brunstzeit stehen auch die Beobachtungen des Verf. an den zehn Uteri der im November geschlachteten Kühe in Übereinstimmung. Dieselben waren an zwei verschiedenen Tagen, am 15. und 28., gewonnen, aber sowohl der am wenigsten, wie der am weitesten entwickelte Embryo aus diesem Monate fand sich innerhalb der Uteri vom späteren Schlachttage.

Schiefferdecker (Bonn).

C. Mikroorganismen.

Burri, R., Das Tuscheverfahren als einfaches Mittel zur Lösung einiger schwieriger Aufgaben der Bakterioskopie (absolute Reinkultur, Spirochätennachweis u. a. m.). Mit 3 Figg. im Text und 16 Photogrammen auf 3 Tfln. 42 pp. Jena (G. Fischer) 1909. 3 M.

Auf die Einzelheiten seines Tuscheverfahrens, von dem an dieser Stelle schon einmal die Rede war[1] und ihre vielseitige Verwendbarkeit geht Verf. in dem vorliegenden Werkchen ausführlich ein. Die einzelnen Handgriffe, die erforderlich sind, werden eingehend beschrieben, die wissenschaftlichen Grundlagen erörtert, das Tuscheverfahren als Mittel zur Erforschung der Entstehung und feineren Struktur der Bakterienkolonien und für andere Zwecke der Bakterioskopie empfohlen. — Das von der Firma Günther Wagner eigens für die Zwecke der Bakteriologen hergestellte Tuschefabrikat kann auch von Grübler bezogen werden. *Küster (Kiel).*

Bechhold, H., u. Ziegler, J., Die Beeinflussung der Diffusion in Gallerten (Zeitschr. f. physik. Chemie Bd. LVI, 1906, p. 104).

Um zunächst zu prüfen, wieweit die Diffusionsgeschwindigkeit von Körpern durch Gallerte geändert wird, ließen Verff. Kochsalz, Jodnatrium, schwefelsaures Natrium in Lösungen von $\frac{n}{1}$ resp. $\frac{n}{2}$ mol auf Gallerte einwirken. Sie umgingen den Nachweis der eingedrungenen Stoffe durch die chemische Analyse, indem sie die Versuchsanordnung so wählten, daß sie z. B. 20prozentige Gelatine mit geringen Mengen Silbernitratlösung versetzten, eine Spur Kochsalz hinzufügten, um eine Sättigung der Gelatine herbeizuführen, und nach dem Erstarren das Röhrchen mit $\frac{n}{1}$ mol Kochsalz beschickten. Sie konnten nun an der auftretenden Trübung den Weg verfolgen, den der diffundierende Körper zurücklegte. Zum Nachweis der Diffusionsgeschwindigkeit

[1]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXIV, 1907, p. 454. — Ich habe a. a. O. Burris Verfahren schon kurz beschrieben.

von schwefelsaurem Natrium versetzten sie die Gelatine mit Chlorbarium. Die Versuche erstreckten sich auf 5prozentige, 10prozentige, 20prozentige Gelatine sowie auf 1prozentigen, 2prozentigen und 4prozentigen Agar. Die Ergebnisse der Versuche waren die folgenden: Elektrolyte und Nichtelektrolyte beeinflussen die Diffusionsgeschwindigkeiten verschiedener Stoffe durch Gelatine und Agar. Schwefelsaures Natrium, Traubenzucker, Glyzerin und Alkohol vermindern die Durchlässigkeit von Gelatine und Agar, Harnstoff erhöht sie. Im Anschluß an diese Versuche untersuchten Verff. die Schmelzpunkte der mit Elektrolyten und Nichtelektrolyten versetzten Gallerten. Gelatine verhält sich umgekehrt wie Agar, dessen Schmelztemperatur durch Traubenzucker und durch Glyzerin herabgesetzt, durch Kochsalz erhöht wurde. Die Methodik der Schmelzpunktsbestimmungen, die sich an ein von M. Wendriner für Asphalt ausgearbeitetes Verfahren anlehnt, ist im Original ausführlich besprochen.

W. Reidemeister (Berlin).

Miehe, H., Beiträge zur Biologie, Morphologie und Systematik des Tuberkelbazillus (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. XXXVI, 1908, H. 1, p. 131).

Behandelt die Morphologie, Systematik und Ernährungsphysiologie unter besonderer Berücksichtigung der Wachstumserscheinungen der Tuberkelbazillen und Harnbazillen und der Methodik ihrer Beobachtung im heizbaren Mikroskop. *W. Reidemeister (Berlin).*

Hart, C., Über die Herstellung der Bakteriennährböden aus künstlichen Bouillonpräparaten (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. L, 1909, H. 4, p. 494).

Verf. empfiehlt, zur Herstellung von Nähragar und Nährgelatine als Ersatz für frisches Fleisch oder Liebigs Extrakt die billige „gekörnte Fleischbrühe“ von Maggi zu verwenden. 10 g von dieser werden mit 10 g Pepton in einem Liter kochendem Wasser gelöst. Chlornatrium ist in dem Maggi-Präparat schon ausreichend enthalten. Die Flüssigkeit wird filtriert und dabei von den Fetttropfen befreit. Die Nährböden werden in der üblichen Weise hergestellt. Das Wachstum der Bakterien ist auf Maggi-Nährböden durchaus typisch. Gonokokken und Meningokokken wuchsen gut nach Zusatz von Ascitesflüssigkeit, Tuberkelbazillen zeigten besonders schönes Wachstum mit

und ohne Glyzerinzusatz; der Nährboden muß für sie nur weich gehalten werden. *Küster* (*Kiel*).

Löffler, F., Walter, E., Dibbelt, E., u. Wehrlin, J., Ein neues Verfahren zum Nachweise und zur Differentialdiagnose der Typhusbakterien mittels Malachitgrün-Safranin-Reinblau-Nährböden (Deutsche med. Wochenschr. 1909, No. 30, p. 1297).

Zum Nachweis von Typhusbazillen in Fäkalien empfiehlt Löffler auf Grund seiner in Gemeinschaft mit den genannten Autoren angestellten Versuche einen Bouillonnutroseagar, welcher auf 100 cc einen Zusatz von 3 cc Galle, 1 cc 0·2prozentigen Safranins (Safranin rein, Grübler), 3 cc einprozentigen Reinblaus (Reinblau doppelt konzentriert von den Höchster Farbwerken, — Kalksalz der Diphenylrosanilinsulfosäure) und 3 bzw. 4 cc 0·2prozentigen Malachitgrüns enthält. Zu je 100 cc des Nähragars (5 Liter Bouillon, 150 g Stangenagar; nach Lösung und Neutralisation werden 50 g Nutrose, die in 500 cc etwa 70° warmen Wassers langsam eingequirlt worden, hinzugefügt) sind Galle und Farbstoffe immer einzeln zuzusetzen. Auf diesem Nährboden sind die Typhuskolonien blau durchscheinend, flach pyramidal mit unebener Oberfläche und nach mehr als 24stündiger Bebrütung mit deutlichem Metallglanz versehen, während die Colikolonien rot oder rötlich im durchfallenden Licht erscheinen. Die Kolonien des Paratyphus B sind ihnen sehr ähnlich, ebenfalls blau, durchsichtig, etwas weniger flach pyramidal, metallglänzend, die von Paratyphus A rund, glashell, bläulich durchsichtig; die coliartigen Organismen dagegen sind dick, saftig und rot. Die Rötung der Colikolonien kommt am schönsten zustande, wenn die Agarplatten etwa 3 mm dick sind, d. h. wenn in eine Schale von 9 cm Durchmesser (63 qcm Fläche) etwa 9 cc Agar geschüttet werden.

Zur Unterscheidung der typhusartigen Bakterien (Typhoideae) bedient sich Löffler seiner Typhus- und Paratyphuslösung. Erstere enthält 2 Prozent Pepton, 1 Prozent Traubenzucker, 1 Prozent Nutrose, 5 Prozent Milchzucker, 1·5 Prozent Normalkalilauge und 1 Prozent 0·2prozentige Malachitgrünlösung. Die zu den Colis, Paratyphen und Fleischvergiftern gehörigen Mikroorganismen rufen innerhalb 24 Stunden eine lebhafte Gärung hervor, die Nutrose wird in schmutzigen Flocken ausgefällt, und an der Oberfläche bildet sich ein grüner Schaumring; der Typhusbazillus dagegen bringt die Flüssig-

keit wie Milch in toto zum Gerinnen; über dem Gerinnsel steht eine klare grüne Flüssigkeit. — Die Paratyphuslösung enthält dieselben Stoffe, nur fehlt ihr der Traubenzucker. Auch hier rufen die Coli Gärung hervor, Typhus und Paratyphus A lassen die Lösung anscheinend unverändert, Paratyphus B und die Fleischvergifter rufen ebenfalls keine Gärung hervor, aber entfärben langsam.

Eine Verbesserung der Methodik erzielte Löffler durch Zusatz von Reinblau, Malachitgrün und Safranin. Werden zu Typhus- und Paratyphuslösung 1 cc 0·2prozentiger Safraninlösung, 2 cc 0·2prozentiger Malachitgrünlösung und 3 cc einprozentiger Reinblaulösung zugesetzt, so geben die Kulturen nach 20- bis 24stündiger Bebrütung folgendes Bild:

	Typhuslösung	Paratyphuslösung
Typhus	blaue Ausfällung. Flüssigkeit schwach violett	unverändert.
Paratyphus A	getrübt; schwache Vergärung	„
„ B	starke Vergärung; Flüssigkeit etwas blaurot	hellrot.
Gärtner	starke Vergärung	„
Mäusetyphus	„ „	„
Bact. coli	„ „	starke Vergärung; Flüssigkeit blau, trübe.
Bacillus typhoides duplex [1]	blaue Ausfällung	blaue Flüssigkeit am Boden, Flüssigkeit darüber trübe.
Paracoli	„ „	

Setzt man zu je 100 cc der Lösungen nur 1 cc 0·2prozentigen Safranins und 3 cc der einprozentigen Reinblaulösung, so treten folgende Reaktionen ein:

	Typhuslösung	Paratyphuslösung
Typhus	blaue Ausfällung. Flüssigkeit rosa.	dunkelviolett. Nach 36 Stunden himbeerrot.
Paratyphus A	„	dunkelviolett. Nach 36 Stunden violettblau.

[1]) In der vorliegenden Arbeit von Löffler neu beschrieben.

	Typhuslösung	Paratyphuslösung
Paratyphus B	Vergärung. Gerinnsel blau	himbeerrot.
Gärtner	" " "	"
Mäusetyphus	" " "	"
Coli	Vergärung, Gerinnsel blau, Flüssigkeit rosa	Vergärung. Gerinnsel violett. Flüssigkeit violett.
Duplex Coli	wie Typhus	schmutzig violette, flock. Ausfällung.

Küster (Kiel).

Guth, F., Zum Nachweis von Typhus- und Paratyphusbakterien (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. LI, 1909, H. 2, p. 190).

Als neuen diagnostischen Nährboden empfiehlt Verf. Alizarin-Fleischwasseragar, den man folgendermaßen herzustellen hat.

In einem Liter Rind- oder Pferdefleischwasser werden 30 g Stangenagar, 10 g Pepton und 5 g Kochsalz gelöst; der Agar soll schwach alkalisch sein; 100 cc davon sollen nach Zusatz von 5 bis 7 cc $^{1}/_{10}$-Normalsäure auf Lackmus neutral resp. amphoter reagieren. Man stellt sich weiterhin eine Lösung von 0·6 g Natriumhydroxyd und 0·8 g Alizarin (z. B. Alizarin trocken, Kahlbaum) in 100 cc destilliertem Wasser her und hält die Mischung einige Minuten im Sieden; und ferner 10 g Milchzucker in 20 bis 30 cc Wasser. Beide Lösungen werden dem flüssigen, mit NaOH alkalisierten Agar zugesetzt; die Farbe des Nährbodens soll dunkelblau mit einem Stich ins Rötliche sein; zeigt er einen bräunlichen Ton, so war der Fleischwasseragar nicht genügend alkalisch. Die fertige Mischung wird nochmals sterilisiert. Vor dem Plattengießen ist gut umzuschütteln.

Die Coli-Kolonien färben den Nährboden gelb und hellen ihn auf, die Typhusbazillen bilden graublaue Kolonien und lassen ihn undurchsichtig, die Angehörigen der Paratyphus-Enteritisgruppe wachsen wie Typhusbazillen. Die Kolonien sind aber wie auf allen Nährböden meist größer und weniger zart.

Zusatz von Malachitgrün hemmt die Entwicklung der Colibakterien, läßt aber die Typhuskolonien erst nach 40 bis 48 Stunden deutlich hervortreten.

Küster (Kiel).

Schindler, H., Über Malachitgrünnährböden (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. LXIII, 1909, H. 1, p. 90).

Untersuchungen über die Beeinflussung verschiedener Faktoren (Reaktion, Art des Alkalizusatzes, Art des Fleischmaterials) auf die Verwendbarkeit des Malachitgrünnährbodens für diagnostische Zwecke, sowie vergleichende Untersuchungen auf den verschiedenen Nährböden. Verf. zieht am Schlusse seine Folgerungen und empfiehlt, bei der Herstellung größerer Mengen von Malachitgrünnährböden durch Vorversuche die günstigste Konzentration von Malachitgrün zu ermitteln. *W. Reidemeister (Berlin).*

Werbitzki, F. W., Untersuchungen über den diagnostischen Wert einiger Nährböden für den Nachweis von Typhusbazillen in Faeces (Arch. f. Hygiene Bd. LXIX, 1909, H. 1, p. 71).

Vergleichende Untersuchungen über die Verwendbarkeit der einzelnen Methoden für den Nachweis von Typhusbazillen. Nach Verf. erhält man mit dem Coffeïn-Anreicherungsverfahren nach Ficker-Lubenau die besten Resultate; ihre allgemeine Verwendung wird aber durch die Schwierigkeit ihrer Anwendung erschwert. Neben dieser Methode empfiehlt Verf. die von Padlewski und Gaethgens; der Nachweis gelingt gleichfalls sehr gut auf Gallegrünagar von Löffler, unter gleichzeitiger Anwendung der Abschwemmungsmethode nach Lentz-Tietz. Weniger günstig waren die Erfahrungen mit dem Nährboden von Knidborg; auf diesem ist die Erkennung schwierig und die hemmende Wirkung nicht genügend scharf.

W. Reidemeister (Berlin).

Werbitzki, F. W., Ein neuer Nährboden zum Nachweis der Typhusbazillen in Faeces (Arch. f. Hygiene Bd. LXIX, 1909, H. 2, p. 191).

Bei der Durchprüfung verschiedener Grünpräparate konnte Verf. konstatieren, daß das Chinagrün Bayer gegenüber den bisherigen Präparaten große Vorzüge besitzt; es hemmt das Wachstum von Typhusbazillen wenig, dagegen fast völlig dasjenige der Colibakterien. Seine Anwendung erfolgt zweckmäßig in Agar, dessen optimale Reaktion 1·3 Prozent Normalnatronlauge unter dem Phenolphtaleïnneutralpunkte betragen soll, in einer Menge von 1·4 bis 1·5 cc 0·2prozentiger Chinagrünlösung auf 100 cc Agar. Der Zusatz erfolgt nach dem

Sterilisieren, nach Abkühlen des Agars auf 60 bis 70°, da längeres Sterilisieren die hemmende Wirkung des Chinagrüns ungünstig beeinflußt. Verf. konnte in einem Falle noch Typhusbazillen in Faeces nachweisen, wenn sich diese zu den Stuhlkeimen wie 1:415000 verhielten. Doch bemerkt Verf., daß sowohl Typhus- wie Colistämme eine wechselnde verschiedene Empfindlichkeit für Chinagrün besitzen.

W. Reidemeister (Berlin).

Marmann, Ein neues Verfahren zum quantitativen Nachweis des Bacterium coli in Wasser; zugleich ein Beitrag zum Verhalten dieses Keimes in Flüssen und Schwimmbassins (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. L, 1909, H. 2, p. 267).

Um etwa 5 bis 10 cc Wasser, das auf Bacterium coli untersucht werden soll, auf einer Platte Endoschen Agars möglichst schnell zum Verdunsten zu bringen, stellt sie Verf. in einen etwa 1 m hohen Kasten (1/4 qm Bodenfläche), in dessen Mitte ein elektrisch betriebener Ventilator arbeitet. Unten im Kasten ist ein Loch, unter dem ein Bunsenbrenner die einströmende Luft anheizt. Über dem Ventilator stehen genau horizontal die Platten. Im Deckel des Kastens sind einige Löcher, durch welche die feuchte Luft entweicht. In 30 bis 40 Minuten kann man 5 cc Wasser zum Verdunsten bringen.

Küster (Kiel).

Dieudonné, A., Blutalkaliagar, ein Elektivnährboden für Choleravibrionen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. L, 1909, H. 1, p. 107).

Als neues Hilfsmittel für die Choleradiagnose empfiehlt Verf. einen Nährboden von folgender Zusammensetzung:

Defibriniertes Rinderblut mischt man mit Normalkalilauge; es entsteht eine lackfarbene Blutalkalilösung, die im Dampftopf sterilisiert werden kann. Von dieser Lösung gibt man 30 Teile auf 70 Teile Nähragar, der auf die übliche Weise hergestellt und auf den Lackmusneutralpunkt eingestellt ist. *Küster (Kiel).*

Marpmann, Über die Kultur hämoglobinophiler Bakterien auf sterilisiertem Blutagar (Zeitschr. f. angew. Mikrosk. Bd. XV, 1909, H. 1, p. 1).

Blutagar fertigt Verf. in folgender Weise an. Man läßt einen Blutegel sich mit Blut füllen; wenn der Egel abfällt, enthält er

meist 15 bis 20 cc Blut. Man bringt ihn dann in 50 cc 20prozentigen Alkohols; hier gibt der Egel das Blut von sich ohne zugrunde zu gehen; er erholt sich in frischem Wasser so weit, daß er nach 4 bis 5 Wochen wieder zum Saugen gebraucht werden kann.

Je 200 cc 2prozentigen Nähragars, den Verf. mit einer Abkochung von Gehirn, Pepton und glyzerinphosphorsaurem Kalk herstellt, werden nach dem Sterilisieren bei 45 bis 48° mit 50 cc des möglichst sterilen Blutwassers gemischt. Dann wird der Nährboden in vorher sterilisierte Reagenzgläser verteilt. *Küster (Kiel).*

Neri, F., Le diagnostic rapide de la rage. Nouvelle méthode de coloration des corps de NEGRI (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. L, 1909, H. 3, p. 409).

Schnitte (Herstellung nach HENKE und ZELLER) oder Ausstriche (Fixierung in absol. Alkohol) werden mit folgender Lösung 10 Minuten behandelt.

Eosin B (GRÜBLER)	1·0 g
Jod	0·1 „
Jodkali	2·2 „
Destilliertes Wasser	100 cc

Hiernach Waschen in destilliertem Wasser, 5 Minuten mit 0·1prozentiger wässeriger Methylenblaulösung färben, wiederum mit destilliertem Wasser waschen; Differenzieren in 95prozentigem Alkohol; Entwässern, Aufhellen, Einbetten. *Küster (Kiel).*

Schereschewsky, J., Züchtung der Spirochaete pallida SCHAUDINN (Deutsche med. Wochenschr. 1909, No. 19, p. 835).

Schereschewsky, J., Weitere Mitteilung über die Züchtung der Spirochaete pallida (Deutsche med. Wochenschr. 1909, No. 29, p. 1260).

Die Züchtung der Spirochaete pallida gelang dem Verf. bei 37° in 3 bis 5 Tagen auf Pferdeserum, welches bei 60° bis zur gallertartigen Konsistenz gebracht und durch etwa dreitägiges Stehen im Thermostaten bei 37° einer teilweisen Autolyse unterworfen worden war. Beim Anlegen einer Originalkultur wird ein Splitter des Ausgangsmaterials (Papeln, breite Kondylome, Primäraffekte) in die Tiefe des Nährbodens gestoßen. Reichlicheres Wachstum ist meist am 5. bis 12. Tage zu konstatieren. Die Reagenzgläser schließt Verf. mit gut passendem Kork; beim Öffnen der Kulturen fällt der Schwefel-

wasserstoffgeruch auf; vielleicht ist die Retention der entwickelten Gase dem Wachstum der Spirochäten förderlich. Beim Weiterimpfen entnimmt Verf. das Material mit der PASTEURschen Kapillarpipette mit Gummiball.

Trockenpräparate der Spirochaete pallida stellt Verf. folgendermaßen her. Die Untersuchungsstelle wird mit trockenem Wattebausch abgerieben, ein austretender Tropfen dann nach Art der Blutabstriche auf dem Objektträger ausgebreitet. Eine halbe Minute fixieren über einprozentiger Osmiumsäure (HAMMsche Röhre); Trocknen in der Luft bei 37° oder hoch über der Flamme; dreimal durch die Flamme ziehen. Gefärbt wird mit:

0·5prozentigem Glyzerin	10 cc
GIEMSA-Lösung	10 Tropfen.

Die Flüssigkeit wird im Reagenzglas bis zum Sieden erhitzt und heiß über das Präparat gegossen. Man achte darauf, daß in der Flüssigkeit keine Niederschläge sich bilden. Die Farblösung bleibt 2 Minuten auf dem Objektträger, während eine neue Mischung in gleicher Weise vorbereitet wird. Man übergießt das Präparat dreimal je 2 Minuten und spült unter der Leitung ab. Die Spirochäten färben sich bläulichrot. *Küster* (*Kiel*).

Marzinowski, E. J., Über die Züchtung von Piroplasma equi (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. LXII, 1909, H. 3, p. 417).

Verf. konnte in einem aus Blut und einigen Tropfen konzentrierter Natriumcitratlösung hergestellten Nährboden ein Auftreten von Entwicklungsformen von Piroplasma equi beobachten, derselben Art, wie sie sonst in infizierten Zecken gefunden werden. Neben einer ausführlichen Beschreibueg enthält die Arbeit zahlreiche Photogramme, die von mit GIMSA-Lösung gefärbten Präparaten aufgenommen waren.

W. Reidemeister (*Berlin*).

Swellengrebel, N. H., Neuere Untersuchungen über die vergleichende Cytologie der Spirillen und Spirochäten (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XLIX, 1908, H. 4, p. 529).

Zum Fixieren wurden außer dem schon früher verwendeten Formol folgende Mittel benutzt.

1) HERMANNsche Lösung:

2) Osmiumsäuredämpfe (Zimmertemperatur).

3) Joddämpfe nach Overton: einige Jodkriställchen werden im Reagenzglas erhitzt, die schweren Joddämpfe läßt man über das Präparat fließen; das überschüssige Jod wird durch Erwärmung auf 40° entfernt.

4) Absoluter Alkohol.

Formol und Joddämpfe gaben die besten Resultate. Joddämpfe eigneten sich auch für Geißeluntersuchungen.

Heidenhains Eisenhämatoxylin bewährte sich wie bei früheren Untersuchungen des Verf. gut. Zum Studium des Volutins diente Methylenblau (nach A. Meyer[1]), das auch das Plasma färbt und daher nur mäßig klare Bilder liefert. Die Giemsa-Färbung liefert sehr schöne differente Plasma- und Chromatinfärbungen; Delafields Hämatoxylin gab nur selten deutliche Bilder. *Küster (Kiel).*

Stephan, S., Über eine besonders für Schnittfärbungen brauchbare Modifikation der Gramschen Färbungsmethode (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. LI, 1909, H. 1, p. 94).

10 cc einer konzentrierten alkoholischen Methylviolett VI B-Lösung werden mit 90 cc eines 2prozentigen Karbolwassers gemischt. Mit der Mischung werden die alkoholfixierten Schnitte 10 Minuten, die säurefesten Stäbchen sowie die Aktinomyces-Arten und Oidien eine Stunde, Tuberkelbazillen eventuell noch länger gefärbt. Abspülen mit Wasser. Hiernach kommen die Schnitte auf 10 Minuten in ein frisch zusammengegossenes Gemisch einer 10prozentigen Ferricyankali- und einer 5prozentigen Jodkalilösung im Verhältnis 1:2. Abspülen mit Wasser. Maximale Entfärbung in Alkohol absol. (Dauer je nach der Dicke der Schnitte). Xylol, Kanadabalsam; eventuell vorherige Gegenfärbung mit verdünntem Karbolfuchsin oder Eosin. — Bei der Behandlung mit dem Ferricyankali-Jodgemisch und später sind die Schnitte mit Glasnadeln zu behandeln. *Küster (Kiel).*

Barannikoff, J., Zur Technik der Versilberung von Spirochaete pallida [Schaudinn-Hoffmann] (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. L, 1909, H. 2, p. 263).

Zum Fixieren von Leichenteilen (oder Vivisektionsmaterial) benutzte Verf. 5- bis 10prozentiges Formalin, Zenkersche Flüssigkeit,

---

[1]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXI, 1904, p. 94.

Kultschitzkysche Flüssigkeit[1], Schaudinns Lösung u. a. Nach dem Auswaschen (eventuell mit Jodkali und Wasserstoffsuperoxyd) kommt das Material in Alkohol steigender Konzentration; Aufbewahrung in 80prozentigem Alkohol. Stückchen von 2 bis 5 mm Dicke kommen zur Untersuchung in Alkoholäther, durch 80- bis 50- bis 30prozentigen Alkohol, dann in ein- bis 1·25prozentige Lösung von Argentum nitricum (etwa das 12- bis 15fache Volumen des Materials). Bei 42° C bleiben die Stücke 48 bis 120 Stunden in der Lösung. Man läßt die Stücke im Thermostaten sich abkühlen, indem man die Flamme löscht; hierauf eine Stunde in zehnmal gewechseltem Wasser spülen, dann bei Zimmertemperatur 15 bis 24 Stunden, je nach Konsistenz des Materials in 3- bis 4prozentiger Pyrogallussäure oder 10- bis 75prozentigem Agfa-Rodinal. Zu den Entwicklern setzt Verf. 3- bis 6prozentiges Formalin zu. Nach dem Entwickeln eine Stunde in strömendes Wasser, in Alkohol steigender Konzentration, Alkoholäther, Äther, Celloïdin. Mikrotomschnitte (15 bis 30 μ) gefärbt mit Hämatoxylin-Eosin, Methylenblau-Eosin, oder des Verf. eigenem aus Romanowskys Mischung erhaltenem violetten Farbstoff[2].

Küster (*Kiel*).

Aßmann, G., Über eine neue Kontrastfärbung zur Darstellung intrazellulärer Tuberkelbazillen im Auswurfe (München. med. Wochenschr. Jahrg. LVI, 1909, No. 13, p. 658).

Verf. hebt die Wichtigkeit der Beobachtung von intrazellulären Tuberkelbazillen für die Kenntnis der Phagocytose im lebenden Körper hervor. Es ist daher notwendig, solche Färbungsmethoden zu suchen, welche in durchaus zuverlässiger Weise ein einwandfreies Erkennen der innerhalb der Zellen gelegenen Stäbchen ermöglichen. Ein solches Erkennen ist aber nur dann gewährleistet, wenn es gelingt, den Protoplasmaleib der Leukocyten bzw. der Eiterkörperchen in scharf umschriebener und mit der Färbung der Tuberkelbazillen gut kontrastierender Form zur Darstellung zu bringen. Verf. beschreibt nun ein Verfahren, mit dem sich in rascher, mit einfachen Mitteln ausführbarer Weise eine schöne und prägnante Kontrastfärbung zwischen Leukocytenprotoplasma und Tuberkelbazillen erzielen läßt. Das-

[1] Vgl. Kultschitzky, N., Die Lehre vom Mikroskop und die Technik der mikroskopischen Untersuchung. 3. Aufl. Charkow 1907.

[2] Vgl. Barannikoff, J., Beiträge zur Frage über den Blutparasitismus bei menschlicher Malaria. Charkow 1897.

selbe besteht im wesentlichen aus einer Kombination der 1906 von dem Verf. in der Münchener medizinischen Wochenschrift veröffentlichten Modifikation der JENNERschen Blutfärbungsmethode mit der allgemein üblichen Karbolfuchsinfärbung der Tuberkelbazillen. — Methode: 1) Färbung des sicher lufttrockenen, durch dreimaliges Hindurchziehen durch die Flamme fixierten, möglichst dünnen Sputumausstriches in heißem Karbolfuchsin etwa eine Minute lang und nachfolgendes Entfärben zuerst in 5prozentiger Schwefelsäure, alsdann in absolutem Alkohol so lange, bis die Präparate makroskopisch völlig entfärbt erscheinen. 2) Sorgfältiges Abspülen im Wasserstrahle wenigstens 30 Sekunden lang, Abtrocknen mit Fließpapier. 3) Einlegen des wieder völlig trockenen Präparates in ein sauberes PETRI-Schälchen und Bedecken desselben mit 40 Tropfen JENNERscher Farblösung von GRÜBLER in Leipzig, so daß die Lösung nicht über den Rand des den Ausstrich tragenden Objektträgers überläuft: 5 Minuten langes Färben. 4) Übergießen mit 20 cc destillierten Wassers, dem vorher 5 Tropfen einer 0·1prozentigen Lösung von Kalium carbonicum zugesetzt wurden, und Umschütteln, bis eine gleichmäßig hellviolette Verdünnung entstanden ist. 3 Minuten langes Nachfärben in der letzteren. 5) Herausnehmen, kurzes Abspülen mit destilliertem Wasser, vorsichtiges Abtrocknen mit Fließpapier. Der Protoplasmaleib der Leukocyten erscheint scharf umschrieben und in einem zarten graurosa Tone gefärbt, von dem sich die leuchtend roten, bei intrazellulärer Lagerung anscheinend regelmäßig von einem schmalen Lichthofe umgebenen Tuberkelbazillen in scharfem Kontraste abheben; die Kerne sind intensiv blau gefärbt und zeigen außerordentlich scharf erkennbare Strukturen, alle nicht säurefesten Bakterien erscheinen tief blau, das Protoplasma der großen Plattenepithelien teils schmutzig rot, teils graublau gefärbt. Durch Vergleichen mit Hilfe der Objektiveinstellung ist die Unterscheidung zwischen intrazellulären und bloß aufliegenden Bazillen unschwer zu treffen, auch der erwähnte, die Stäbchen wohl nur bei intrazellulärer Lagerung einhüllende Lichthof kann als unterstützendes Merkmal herangezogen werden.

Schiefferdecker (Bonn).

Ellermann, V., u. Erlandsen, A., Nachweis von Tuberkelbazillen im Sputum (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. LXI, 1908, H. 2, p. 218).

Verff. geben in der Einleitung eine ausführliche Zusammenstellung der gebräuchlichsten Methoden, die sich mit dem Nachweis

der Tuberkelbazillen im Sputum befassen, und zwar unterscheiden sie solche, bei denen Alkalien, Fermente, oder Wärme zur Anwendung gelangen, sowie diejenigen, welche die Lösung von Schleim bezwecken. Ihre eigenen Untersuchungen berücksichtigen die Faktoren, welche die Sedimentierung beeinflussen und den Einfluß verschiedener Reagenzien auf die Tuberkelbazillen. Die quantitative Bestimmung führten sie mit einer Zählmethode unter Berechnung des wahrscheinlichen Fehlers aus. Durch zwei neue Methoden beabsichtigen Verff. die Empfindlichkeit des Nachweises von Tuberkelbazillen zu erhöhen:

„1) 1 Vol. Expektorat (10 bis 15 cc) wird in einem verkorkten Meßglas mit $^1/_2$ Vol. 0·6prozentiger Sodalösung vermischt. Die Mischung steht 24 Stunden lang im Thermostaten bei 37°.

2) Der größte Teil der obenstehenden Flüssigkeit wird abgegossen und der Bodensatz in einem eingeteilten Zentrifugenglas zentrifugiert. Die Flüssigkeit wird abgegossen.

3) 4 Vol. 0·25prozentiger Natronlauge werden 1 Vol. Bodensatz zugesetzt. Nach sorgfältigem Umrühren läßt man aufkochen.

4) Zentrifugieren.“

Punkt 1 und 2 allein repräsentieren die „Autodigestion“. Die von Verff. angestellten vergleichenden Untersuchungen scheinen dieser neuen Methode eine Überlegenheit zu sichern. Verff. fanden je nach der Leistungsfähigkeit am brauchbarsten: 1) Die Doppelmethode. (Methode der Verff. 1 bis 4.) 2) Autodigestion. 3) Phillipps Methode. 4) Hempels Methode. 5) Sprenglers Methode. 6) Mühlhäusers Methode. 7) Stroscheins Methode.

W. Reidemeister (Berlin).

D. Botanisches.

Nieuwland, J. A., The mounting of algae (Botan. Gaz. vol. XLVII, 1909, no. 3, p. 237—238).

Zum Konservieren und Einschließen von Algen empfiehlt Verf. im Anschluß an die Erfahrungen und Mitteilungen von G. S. West eine 2prozentige Lösung von Kaliumacetat, der man etwas Kupferacetat zugefügt hat. Das Präparat wird mit Goldsize verschlossen.

Vaucherien, insbesondere Zoosporen vor oder nach der Keimung fixiert Verf. eine halbe Stunde in 3- oder 4prozentigem Formalin;

das Fixiermittel wird dann durch wiederholtes Auswaschen mit Wasser entfernt; dann Übertragung in 10prozentiges Glyzerin, dem etwas Thymol zugefügt worden ist; man läßt das Glyzerin allmählich sich eindicken. Auch andere Grünalgen sind in derselben Weise zu präparieren.

Kalium-Kupferacetat entfärbt Diatomeen. —

Eine Modifikation der Kalium-Kupferacetat-Methode wendet Verf. folgendermaßen an. Das Material wird in die oben genannte Acetatlösung gelegt und hiernach — die Dauer der Fixierung muß für verschiedene Algenarten besonders ausprobiert werden — zur Acetatlösung das gleiche Volumen einer 10prozentigen Glyzerinlösung gegeben. Die Mischung läßt man allmählich eindampfen.

Küster (Kiel).

Mangin, L., Observations sur les Diatomées (Ann. Sc. nat., Botanique, sér. IX, t. VIII, 1908, p. 177).

Der organische Bestandteil der Diatomeenmembranen enthält nach den mikrochemischen Untersuchungen des Verf. weder Cellulose noch Callose. Wohl aber lassen sich in ihnen mit Rutheniumrot und anderen bekannten Reagentien Pektinverbindungen nachweisen, wenn man das Diatomeenmaterial folgendermaßen vorbehandelt. Die Diatomeen werden mit einem Gemisch von 50prozentiger Salzsäure und Chlorkali 24 Stunden lang behandelt; der Rückstand wird durch Zentrifugenbehandlung gewaschen, mit absolutem Alkohol und dann mit sirupdicker Lösung von Kalium in Alkohol behandelt, hiernach mit gewöhnlichem und mit absolutem Alkohol gewaschen und dann in 3prozentige Borsäurelösung gebracht. Die Diatomeenschalen färben sich hiernach vortrefflich mit Rutheniumrot.

Küster (Kiel).

Kurssanow, L., Beiträge zur Cytologie der Florideen (Flora Bd. XCIX, 1909, H. 4, p. 311—336).

Sein Material (Helminthora, Helminthocladia, Nemalion) fixierte Verf. in Jodmeerwasser und namentlich mit v. Raths Mischung, die mit Seewasser zehnmal verdünnt worden war. Zum Färben dienten Heidenhains Eisenhämatoxylin, Delafields und Kleinenbergs Hämatoxylin, — die beiden letzten in sehr starker Verdünnung (2 bis 4 Tropfen auf 500 cc Leitungswasser). Die Färbung beanspruchte bei Zimmertemperatur 24 Stunden oder mehr. Das Material wurde in recht beträchtlichen Portionen gefärbt und zur Entfärbung, falls

solche nötig war, in eine offene Schale mit 10prozentiger Glyzerinlösung gelegt und in dieser auf den Thermostaten (40° C) gestellt. Nach einem bis 3 Tagen verdickte sich das Glyzerin bis zur Sirupkonsistenz. Die Untersuchung wurde im Glyzerin vorgenommen. Material, das mit KLEINENBERGschem oder DELAFIELDschem Hämatoxylin behandelt worden war, konnte auf Quetschpräparaten untersucht werden; nach Anwendung von HEIDENHAINschem Hämatoxylin dagegen mußten die Algen mit Nadeln zerzupft werden.

Küster (Kiel).

Wisselingh, C. v., Zur Physiologie der Spirogyrazelle (Beih. z. botan. Zentralbl. Bd. XXIV, 1908, Abt. 1, p. 133).

Verf. zeigt, daß man durch Zentrifugieren von Spirogyrafäden die verschiedensten abnormalen Zellengebilde erhalten kann — kernlose, doppelkernige, chlorophyllreiche, chlorophyllarme und chlorophylllose Zellen u. a. m. *Küster (Kiel).*

Merton, H., Über den Bau und die Fortpflanzung von Pleodorina illinoisensis KOFOID. (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XC, 1908, p. 445—477 m. 2 Figg. u. 2 Tfln.).

Zur Fixierung kam in erster Linie Sublimatessigsäure mit ziemlich gutem Erfolg zur Verwendung; außerdem noch das FLEMMINGsche Gemisch und 0·25prozentige Osmiumsäure. Zur Kernfärbung bewährte sich am besten DELAFIELDS Hämatoxylin und Hämalaun; zur Schnittfärbung leistete außerdem die MALLORYsche Dreifachfärbung recht gute Dienste, ebenso Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN oder WEIGERT mit darauffolgender Tinktion mit Pikrinsäure-Fuchsin.

E. Schoebel (Neapel).

Yamanouchi, Sh., Mitosis in Fucus. Contributions from the Hull Botan. Labor. 124 (Botan. Gaz. vol. XLVII, 1909, no. 3, p. 173—197 w. 2 plts.).

Als Fixiermittel bewährte sich FLEMMINGS schwächere Lösung in verschiedenen Modifikationen. Zum Einbetten wurde Paraffin, das bei nahezu 52° C schmolz, genommen. Gefärbt wurde mit Safranin und HEIDENHAINS Eisenhämatoxylin. — Bei Pflanzen, die etwa eine oder 2 Stunden nach Überspülung durch die Flut gesammelt worden waren, zeigte sich eine Fülle von Teilungsfiguren.

Küster (Kiel).

Richter, O., Zur Physiologie der Diatomeen (II. Mitteilung): Die Biologie der Nitzschia putrida Benecke (Denkschriften d. Akad. d. Wiss. Wien; math.-naturwiss. Kl., Bd. LXXXIV, 1909, p. 660—772).

Reinkulturen von Nitzschia putrida gewann Verf. in der Weise, daß er kleine Fragmente von Fucus auf Meerwasseragar übertrug. Die Diatomeen vermehren sich auf ihm rapid und entfernen sich sehr geschwind von der Impfstelle, so daß man in einiger Entfernung von dieser Agarstückchen mit einer oder mit mehreren Nitzschiazellen bequem abheben kann. — Schwemmt man diatomeenhaltiges Material auf dem Objektträger in einem Tropfen Meerwasser auf, so heften sich die Nitzschien sehr bald mit einem kleinen Schleimklümpchen am Glase fest. Läßt man den diatomeenhaltigen Tropfen eine oder 2 Minuten ruhig stehen und schwemmt dann mit Meerwasser alle Verunreinigungen ab, so bleiben fast nur noch die angehefteten Diatomeen haften; auch die Bakterien werden fast vollzählig beseitigt.

Sehr üppiges Wachstum erzielt man mit Nährböden, welche Pepton, Dextrin oder Leucin enthalten. Si und Na (0·3 bis 6 Prozent Chlornatrium) sind für Nitzschia putrida unerläßlich, der Nährboden soll schwach alkalisch reagieren.

Gute Färbung des Kerns erzielte Verf. nach Fixierung mit Osmiumsäuredämpfen durch Behandlung mit Anilingentianaviolett („etwa 30 cc Anilinwasser mit einem einzigen Körnchen Farbstoff“), in zweiter Linie mit Jodwassereosin direkt oder nach Entwässerung mit Alkohol; im zweiten Fall ist Einbettung in Nelkenöl notwendig. Doppelfärbungen mit Jodwasser-Eosin-Anilin-Gentianaviolett lassen den Kern rötlich, das Plasma violett werden. Bei Untersuchung der vom Verf. gefundenen „Plasmodien“ (der aus den Schalen hervorgetretenen Plasmamassen der Diatomeenzellen) müssen diese samt dem Agar, auf dem sie liegen, in die Färbemittel gebracht werden.

Das Plasma färbt sich gut mit Magdalarot und Gentianaviolett.

Behandelt man die Diatomeen intravital mit sehr verdünntem Methylenblau, so färben sich stets zwei vom Kern gleich weit entfernt liegende kugelige Gebilde, die vielleicht Elaïoplasten darstellen.

Intravitale Färbung mit Neutralrot gestattet leicht, tote Nitzschien von lebendigen zu unterscheiden. In lebenden Zellen färbt sich der Zellsaft. Die Membranen lebender Zellen bleiben farblos, die der toten Zellen färben sich. *Küster (Kiel).*

Andreesen, A., Beiträge zur Kenntnis der Desmidiaceen (Flora Bd. XCIX, 1902, H. 4, p. 373—413).

Wachstum und Teilung von Desmidiaceen verfolgte Verf. in Nährlösungen, welche den Stickstoff in Amidobindung enthielten.

Zur Färbung der Stäbchen in der Desmidiaceengallert dienten Neutralrot und Methylenblau; starke Quellung ruft Behandlung mit Diastase hervor. *Küster (Kiel).*

Küster, E., Eine kultivierbare Peridinee (Arch. f. Protistenkunde Bd. XI, 1908, p. 351).

Als kultivierbar wird eine vom Verf. auf Fucus gefundene saprophytisch lebende Gymnodinium-Species beschrieben. Am besten wächst diese auf Fucusdekokt (in Meerwasser) + 2 Prozent Agar. *Küster (Kiel).*

Schikorra, W., Über die Entwicklungsgeschichte von Monascus (Zeitschr. f. Botan. Bd. I, 1909, H. 6, p. 379).

Fixiert wurde mit Alkohol-Eisessig, gefärbt namentlich mit Heidenhains Hämatoxylin-Eisenalaun; zur Gegenfärbung diente Eosin- oder Orange G-Nelkenöl. *Küster (Kiel).*

Zach, F., Über den in den Wurzelknöllchen von Elaeagnus angustifolia und Alnus glutinosa lebenden Fadenpilz (Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien, math.-naturwiss. Kl., Bd. CXVII, Abt. 1, 1908, p. 973).

Fixiert wurde mit Merkels Flüssigkeit und (Elaeagnus) mit Formol. Die Freihandschnitte wurden mit Chlorzinkjod oder (Alnus) mit Anilinsafranin gefärbt; gute Dienste leistete Aufhellung mit Chloralhydrat und bei Alnus auch verdünnte Schwefelsäure. *Küster (Kiel).*

Guttenberg, H. Ritter v., Cytologische Studien an Synchytriumgallen (Jahrb. f. wiss. vol. Bot. XXXXVI, 1909, p. 453).

Verf. fixierte mit Chromosmiumessigsäure oder 96prozentigem Alkohol. Zum Färben dienten Heidenhains Eisenhämatoxylin, das in Kombination mit Kongorot (Nachfärbung) sehr gute Bilder gab, Zimmmermanns Jodgrün-Fuchsin, Flemmings Dreifarbengemisch und Giemsas Eosin-Methylenblau; letzteres bewährte sich am wenigsten.

Um Dauersporen von Synchytrium Anemones oder anderen Arten, deren Membran in heißer Eau de Javelle sich sofort löst, auf Chitin zu prüfen, führte Verf. folgende Reaktion aus: Blattstücke, welche reichlich Synchytrien enthielten, wurden zusammen mit einem Stückchen Ätzkali im Reagenzglas mit Hilfe eines Glyzerinbades auf 170° erwärmt und in dem geschmolzenen Ätzkali eine halbe Stunde belassen. Dann wird das Reagenzglas aus dem Bad genommen und langsam gekühlt. Die erstarrende Masse übergoß Verf. mit 96prozentigem Alkohol und schüttete die Lösung in ein flaches Gefäß; in diesem wäscht man mit Alkohol abnehmender Konzentration so lange die Objekte aus, bis die Kalilauge zum größten Teil entfernt ist und die Objekte das Zutreten von Wasser vertragen ohne zu zerfallen. Hiernach überträgt man sie auf einen Objektträger in Jodwasser, bedeckt sie mit einem Deckglas und läßt vom Rand her verdünnte Schwefelsäure zufließen. Sofort tritt die Mykosinreaktion ein: die wohlerhaltenen Wände der Synchytriumsporen färben sich dunkelrotviolett, die verquollenen Wände der Wirtspflanze färben sich himmelblau. *Küster (Kiel).*

Wilson, M., On spore formation and nuclear division in Mnium horminum (Ann. of Bot. vol. LXXXIX, 1909, p. 141).

Als Fixierungsmittel wurden verwendet: Flemmings schwache und starke Mischung, letztere auch mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt, ferner Eisessigalkohol (2 Teile absoluter Alkohol, ein Teil Eisessig). Letzterer wirkte 15 bis 20 Minuten auf die Objekte ein, dann wurden diese in mehrfach gewechseltem absoluten Alkohol gewaschen. Vor Behandlung mit Flemmings Gemischen wurden die Objekte unter die Luftpumpe gebracht; dann wurde das Material auf 18 bis 24 Stunden in die Fixierungsflüssigkeit gelegt, 24 Stunden in fließendem Wasser gewaschen und in eine 10prozentige Glyzerinlösung auf breiten Uhrgläsern übertragen; das Glyzerin läßt man an einem warmen Platz binnen 24 Stunden sich eindicken. Das wasserfreie Material kommt dann direkt in Methylalkohol und schließlich in absoluten Alkohol. Diese Methode der Entwässerung lieferte bessere Resultate als das übliche Verfahren mit Alkohol steigender Konzentration.

Schnitte durch die Sporenkapsel wurden gefärbt mit Flemmings Dreifarbengemisch oder Heidenhains Eisenhämatoxylin.

Küster (Kiel).

Modilewski, J., Zur Embryobildung von Euphorbia procera (Ber. d. d. bot. Ges. Bd. XXVII, 1909, H. 1, p. 21).

Verf. fixierte sein Material mit Alkohol-Eisessig und verfuhr bei der Färbung nach folgender Vorschrift: „Man sättigt 50 cc absoluten Alkohol mit essigsaurem Kupfer, gibt zur Auflösung 50 cc Wasser zu, löst dann in diesem Gemisch 1 g Malachitgrün und 0·4 g saures Fuchsin. In dieser abfiltrierten, aber vorher verdünnten (20 Tropfen auf 10 cc Wasser) Lösung färbt man die Präparate im Verlauf von 12 bis 24 Stunden. Dann differenziert man die Schnitte mit absolutem Alkohol und färbt nachher während einer Viertelstunde mit Nelkenöl, welches mit Orange gesättigt ist. Diese Färbemethode ist für embryologische Untersuchungen sehr geeignet und ist eine Abänderung der in der pathologischen Medizin öfters verwendeten Färbemethode.“ *Küster* (*Kiel*).

Lidforss, B., Untersuchungen über die Reizbewegungen der Pollenschläuche. I. Der Chemotropismus (Zeitschr. f. Botan. Bd. I, 1909, H. 7, p. 443).

Zur Kultur von Pollenschläuchen empfehlen sich vor allem Agarnährböden. Bei der Erforschung des Saccharochemotropismus der Schläuche verfuhr Verf. in der Weise, daß er die Pollenkörner in einem auf dem Objektträger ausgebreiteten, in ziemlich dicker Schicht erstarrenden Kulturtropfen, in dessen Mitte eine Glasperle ruhte, zum Keimen brachte. Nach einiger Zeit wurde die Perle mit einer Pinzette vorsichtig abgehoben und in der so entstandenen Kavität die Zuckerlösung eingetragen. Bei Untersuchung des Proteochemotropismus empfiehlt es sich auf eine erstarrende Pollenkultur kleine Fragmente des Proteïnstoffes in fester Form aufzuschütten; sie sinken in die Gallert ein, und um jedes der Partikel bildet sich eine Diffusionszone von wechselnder Breite.

In sehr vielen Fällen hat Agar den Vorzug vor Gelatine, daß die in diesem Medium auskeimenden Schläuche eine sehr viel stärkere Vitalität besitzen als die in Gelatine erwachsenen und zur Erforschung ihrer reizphysiologischen Eigenschaften sich sehr viel besser eignen.

Die Pollenkörner der Malvaceen, Umbelliferen und Kompositen, die bisher nicht zur Keimung gebracht werden konnten, sah Verf. auf Agar mit 30 bis 40 Prozent Rohrzucker keimen.

Sehr wichtig ist bei Beschäftigung mit dem Proteochemotropismus der Pollenschläuche die Verwendung möglichst reiner chemischer Präparate. *Küster* (*Kiel*).

Rosenberg, O., Cytologische und morphologische Studien an Drosera longifolia + rotundifolia (Kungl. Svenska Vetensk. Akad. Handl. Bd. XLIII, 1909, No. 11).

Vergleichende Untersuchungen mit verschiedenen Fixierungsmitteln ergaben, daß eine „gute“ Fixierung mit einer und derselben Flüssigkeit für verschiedene Stadien oft nicht zu erreichen ist. FLEMMINGS Chrom-Osmium-Essigsäure fixiert besonders die postsynaptischen Phasen von der ersten Spindelanlage an bei Drosera „sehr gut“, ferner die Embryosackentwicklung und die Embryobildung, dagegen weniger gut die prosynaptischen Stadien und die Diakinese. Die FLEMMINGsche Lösung kam in der stärkeren und schwächeren Modifikation (STRASBURGER, Botanisches Praktikum) und in CHAMBERLAINS Modifikation zur Anwendung; letztere schwärzt die Objekte nicht so; auch bleibt sie ziemlich lange haltbar, da die Osmiumsäure nur beim Gebrauch zugesetzt wird.

CARNOYS Alkohol-Chloroform-Essigsäure wirkt ganz anders als FLEMMINGS Gemisch und fixiert vortrefflich die Prophasenstadien der Reduktionsteilung. Am besten wirkt frisch zubereitete (gleichviel ob nach Gewichts- oder Volumprozenten) Lösung. Man läßt sie 12 bis 24 Stunden einwirken. Die beste Färbung für das mit FLEMMING fixierte Material ist die mit HEIDENHAINS Eisenhämatoxylin. Besonders überlegen ist die CARNOYsche Flüssigkeit der FLEMMINGschen, wenn es sich darum handelt, die Prochromosomen in somatischen oder Gonotokontenkernen nachzuweisen. Die Prochromosomen heben sich von dem übrigen Kerngerüst in CARNOY-Material sehr viel schärfer ab als in FLEMMING-Material, bei dem die nachfolgende Färbung dieselbe Differenzierung nicht so gut hervortreten läßt.

Verf. fand, daß man ein Quantum Fixierungsflüssigkeit am besten immer nur einmal verwendet.

JUELS Fixiermittel gab bei Untersuchung der Embryosackentwicklung sehr gute Resultate; die Reduktionsteilungsphasen werden in dieser Flüssigkeit nicht so gut fixiert wie in CARNOYS Gemisch.

HERMANNS Platinchlorid fixiert gut, schwärzt aber das Material allzu sehr.

Gefärbt wurde nach den üblichen Methoden. Am besten bewährten sich nach Fixierung mit CARNOYS Flüssigkeit Eisenhämatoxylin und nach FLEMMING-Fixierung Safranin-Gentiana. Auch Fuchsin-Toluidinblau und Fuchsin-Anilinblau färbten gut.

Küster (Kiel).

Himmelbaur, W., Die Mikropylenverschlüsse der Gymnospermen mit besonderer Berücksichtigung derjenigen von Larix decidua (Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien, math.-naturwiss. Kl., Bd. CXVII, Abt. 1, 1908, p. 3).

Die weiblichen Blüten von Larix fixierte Verf. mit Flemmingscher Lösung, Juels Gemisch (2 g Zinkchlorid, 2 cc Eisessigsäure, 100 cc 50prozentigen Alkohol), Guignards Flüssigkeit (0·5 g Eisenchlorid, 2 cc Eisessigsäure, 100 cc Wasser) und Pfeiffer-Gemenge (gleiche Teile von 40prozentigem Formaldehyd, rektifiziertem Holzessig und Methylalkohol). Am besten bewährten sich Flemmings und Pfeiffers Fixiermittel: im letzteren können die Objekte beliebig lange liegen bleiben. *Küster* (*Kiel*).

Boresch, K., Über Gummifluß bei Bromeliaceen nebst Beiträgen zu ihrer Anatomie (Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien, math.-naturwiss. Kl., Bd. CXVII, Abt. 1, 1908, p. 1033—1080 m. 3 Tfln.).

Als Färbungsmittel bei Untersuchung der lysigenen Gummilücken bei Bromeliaceen empfiehlt sich Rutheniumrot.

In Zentralzylinder und Rinde liegen zahlreiche Zellen, deren Inhalt bei Zusatz von Chlorzinkjod einen dichten feinkörnigen, schwarzblauen Inhalt ausfallen läßt; offenbar wird in seinen Zellen durch Chlorzink ein Stoff ausgefällt, der Jod mit blauer Farbe speichert. In Eisensulfat färben sich dieselben Zellen grün. Offenbar liegt ein eisengrünender Gerbstoff beiden Reaktionen zugrunde.

Küster (*Kiel*).

Schaffner, J. H., The reduction division in the microsporocytes of Agave virginica (Botan. Gaz. vol. XLVII, 1909, no. 3, p. 198—214 w. 3 plts.).

Chromessigsäure (0·3 Prozent Chromsäure, 0·7 Prozent Eisessig) diente zum Fixieren. Gefärbt wurde mit Heidenhains Eisenhämatoxylin; Delafields Hämatoxylin und verschiedene Safraninkombinationen befriedigten nicht. *Küster* (*Kiel*).

Prodinger, M., Das Periderm der Rosaceen in systematischer Beziehung (Denkschrift d. math.-naturwiss. Kl. d. K. Akad. Wiss. Wien Bd. LXXXIV, 1908, p. 329).

Um Kork sicher nachzuweisen legte Verf. die Schnitte entweder in Chromsäure, welche alles bis auf die verkorkten Wände zerstört, oder färbte nach Vorbehandlung mit Eau de Javelle nach Strasburger mit einer ammoniakalischen Lösung von Säuregrün; wäscht man mit Salzsäure aus, so bleibt nur der Kork grün gefärbt. Weiterhin wurden Doppelfärbung mit Säuregrün-Kongorot und Färbung mit Sudan III-Glyzerin angewandt. *Küster (Kiel).*

Neue Literatur.

1. Lehr- und Handbücher.

Aschoff, L., Pathologische Anatomie. Ein Lehrbuch für Studierende und Ärzte. Bd. I: Allgemeine Ätiologie. Allgemeine pathologische Anatomie. Mit 364 großenteils mehrfarbigen Abbildungen. Bd. II: Spezielle pathologische Anatomie. Mit 1 lithogr. Tafel u. 552 großenteils mehrfarbigen Abbildungen. Jena (G. Fischer) 1909.
Preis für beide Bände: 22·50 M., geb. 25 M.

Fuhrmann, Fr., Leitfaden der Mikrophotographie in der Mykologie. Mit 3 Tfln. u. 33 Abbildungen im Text. Jena (G. Fischer) 1909. 88 pp. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 262.) 3 M.

Gage, S. H., The Microscope. Introduction to microscopic Methods and to Histology. 10. Edition fully revised. 250 figg. New York 1908. 350 pp. 8°. 10 M.

Jagić, N. v., Atlas und Grundriß der klinischen Mikroskopie mit Berücksichtigung der Technik. Wien (M. Perles) 1903. 135 Seiten Text, 37 Tfln. m. 70 Abbild. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 261.) 25 M.

Korányi, A. v., u. **Richter, P. F.**, Physikalische Chemie und Medizin. Ein Handbuch unter Mitwirkung von Dr. J. Bence, Prof. Dr. Boruttau, Prof. Dr. F. Bottazzi, Dr. F. Frankenhäuser, Dr. R. Höber, Prof. Dr. A. v. Korányi, Prof. Dr. A. Loewy, Prof. Dr. L. Michaelis, Dr. Oker-Blom, Prof. Dr. P. F. Richter, Dr. M. Roloff, Prof. Dr. C. Spiro und Prof. Dr. H. Strauss herausgegeben. Bd. II. Mit 24 Abb. 484 pp. Leipzig (G. Thieme) 1908. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 261.) 10 M.

Kraus, R., u. **Levaditi, C.**, Handbuch der Technik und Methodik der Immunitätsforschung. Bd. I: Antigene. 1138 pp. Preis 32 M., geb. 34·50 M. Bd. II: Antikörper. 1219 pp. Preis 33 M., geb. 35·50 M. Jena (G. Fischer) 1909.

Müllern, K. v., Grundriß der klinischen Blutuntersuchung. Mit 6 Tfln. u. 5 Abb. im Text. Leipzig u. Wien (F. Deuticke) 1909. 8 M.

Róna, S., Dermatologische Propädeutik. Die entzündlichen Erscheinungen der Haut im Lichte der modernen Pathologie. Sieben Vorlesungen für Ärzte und Studierende. Berlin (Jul. Springer) 1909.

Stöhr, P., Lehrbuch der Histologie und der mikroskopischen Anatomie des Menschen mit Einschluß der mikroskopischen Technik. 13. verb. Aufl. 367 Figg. Jena (G. Fischer). XIII, 487 pp. 8°. 8 M.

Villinger, E., Anleitung zur Präparation und zum Studium der Anatomie des Gehirns. Leipzig (Engelmann). 23 pp. 8°. 1 M.

---

2. Mikroskop und mikroskopische Apparate.

a. Kataloge.

Leitz, E.: Mikroskope. Katalog No. 43 A.
Leitz, E.: Mikroskopische Nebenapparate. Katalog No. 43 D.
Zeiss, C.: Mikroskopstative. Heft 5.

---

b. Neue Mikroskope.

Eleizegui, A., Un nuevo modelo de microscopio para la enseñanza, 1 fig. (Bol. de la R. Soc. española de Hist. nat. t. VIII, 1908, no. 9/10, p. 442—444).

(**Revol, G.**,) Simple apparatus for Micrography (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 3, p. 405; vgl. Rev. Metallurgie vol. IV, 1909, p. 442—445).

Bausch and Lomb's Stand DDH (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 2, p. 238; vgl. Bausch and Lomb's Catalogue, Microscopes and Accessories).

Bausch and Lomb's Pocket Dissecting microscope Stand S* (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 2, p. 241; vgl. Bausch and Lomb's Catalogue, Microscopes and Accessories, p. 49).

Bausch and Lomb's Petrographical Stand LCH (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 3, p. 395; vgl. Bausch and Lomb's Catalogue, Microscopes and Accessories, p. 46).

Watson and Sons' Porro-prism erector for dissecting microscopes (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 3, p. 396; vgl. Watson and Sons' Catalogue 1909, p. 69).

Zeiss' neues Laboratoriums- und Kursstativ mit oder ohne Kippvorrichtung (Zeiss' Mikroskopstative Heft 5, 1909).

---

c. Objektive.

Hall's Grip Nose-piece (Journ. R. Micros. Soc. 1909, pt. 3, p. 398; vgl. WATSON and SONS' Catalogue 1909, p. 110).

d. Okulare.

BAUSCH and LOMB's compound erecting body (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 2, p. 241; vgl. BAUSCH and LOMB's Catalogue, Microscopes and Accessories, p. 57).

WATSON and SONS' Eye-piece Analyser (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 3, p. 398; vgl. WATSON and SONS' Catalogue 1909).

e. Lupen.

KORISTKA's Loup of two achromatic lenses (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 2, p. 242; vgl. KORISTKAS Katalog No. III, 1908, p. 77).

f. Mikrometer.

BAUSCH and LOMB's Filar Micrometer (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 2, p. 247; vgl. BAUSCH and LOMB's Catologue, Microscopes and Accessories, p. 61).

HENSOLDT's New Micrometer Microscopes (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 2, p. 240; vgl. HENSOLDTS Katalog: Astronomische Optik, p. 7, 8).

HENSOLDT's Micrometer-Oculars (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 2, p. 243; vgl. HENSOLDTS Katalog: Astronomische Optik, p. 5, 6).

g. Zeichenapparate.

Evatt, Ev. J., The cameragraph: a drawing apparatus (Journ. of Anat. and Physiol. ser. 3, t. III, 1908, no. 42, p. 335—336).

h. Beleuchtungsapparate.

(**Goosman**,) Dunkelfeldbeleuchtung mittels gewöhnlichen Mikroskops (Deutsche med. Wochenschr. 1909, No. 24, p. 1073; vgl. Journ. of Americ. Assoc. no. 20).

Heimstädt, O., Apparat zur Dunkelfeldbeleuchtung und für Ultramikroskopie (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Bd. L, 1909, H. 2, p. 283).

Jenčič, A., Ein wichtiger Fortschritt der mikroskopischen Beleuchtungsmethoden (Allgem. Zeitschr. f. Bierbr. u. Malzfabr. Bd. XXXVI, 1908, p. 179—182).

KORISTKA's Illuminator for opaque objects (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 3, p. 398; vgl. KORISTKAS Katalog XIII, 1908, p. 57).

STILE's „Universal" Microscope lamp (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 3, p. 399; vgl. WATSON and SONS' Catalogue 1909, p. 122—123).

i. Verschiedenes.

Merlin, A. A. C. L., Some remarks on a german silver powell portable microscope, made in 1850 (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 2, p. 167).

Petri, R. P., A. VAN LEEVWENHOEKS Mikroskop (Naturw. Wochenschr. Bd. XXII, 1908, p. 1).

Römer, J., Aus dem Leben eines Mikroskopikers zur LINNÉschen Zeit (Mikrokosmos Bd. II, 1908/1909, H. 7/8).

Rohr, M. v., Beiträge zur photographischen Optik aus den Anfängen der Photographie (Zeitschr. f. Instrumentenkde. Bd. XXIX, 1909, p. 138).

Strehl, K., Wie kann man sein Mikroskop leistungsfähiger machen? (Mikrokosmos Bd. II, 1908/1909, H. 7/8).

Strehl, K., Die Prüfung eines Mikroskops (Die Kleinwelt Bd. I, H. 1, p. 10).

JEAN ALFRED NACHET, 1831—1908 [Nekrolog] (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 2, p. 174).

---

3. Mikrophotographie und Projektion.

Chevroton, L., Dispositif pour les instantanées et la chromophotographie microscopiques. Technique des prises vues. 1 fig. (Compt. Rend. Soc. Biol. t. LXVI, 1909, no. 8, p. 340—342).

Kuhlmann, W., Über einfache Methoden, vergrößerte und stereoskopische Bilder kleiner Objekte herzustellen (Mikrokosmos Bd. III, 1909/1910, No. 1).

Lemke, H., Die Kinematographie in der Schule (Mikrokosmos Bd. III, 1909/1910, No. 1).

Prenzlow, Fr., Über die Selbstanfertigung eines mikrophotographischen Apparates (Die Kleinwelt Bd. I, H. 1, p. 8).

Secques, Fr., Chambre noire portative pour projections, 1 fig. (Bull. de la Soc. Zool. de France t. XXXIV, no. 3/4, p. 35—37).

Streißler, A., Mikroskopie der photographischen Platte (Mikrokosmos Bd. II, 1908/1909, No. 10).

Ein neuer Apparat zur Betrachtung projizierter Stereoskopbilder (Mikrokosmos Bd. III, 1909/1910, No. 1).

Koristka's complete Apparatus for Macro- and Microprojection (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 2, p. 243; vgl. Koristkas Katalog XIII, 1908).

Krüss' Epidiaskop (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 2, p. 251; vgl. Deutsche Mechan.-Zeitg. 1908, p. 166—168).

Schmidt and Haensch's special Episcope (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 2, p. 247; vgl. Deutsche Mechan.-Zeitg. 1908, p. 213—216).

---

4. Präparationsmethoden im allgemeinen.

Caspari, H., Brutmaschinen, 5 Figg. (Landwirtschaftl. Umschau Jahrg. I, 1909, No. 11, p. 249—250).

Gallenga, C., Sull'uso dei vetri azzurri come portaoggetti (Monit. Zool. Ital. Anno XX, no. 1, p. 11—12).

Hoskins, R. G., Some Laboratory Methods in Embryology. 2. Including a Description of a simple Paraffin-Bath and a new Style of Section-Knife, 1 fig. (Kansas Union Science Bull. vol. IV, 1908, no. 18, p. 371—374).

Küster, E., Vorrichtung zur genauen Abmessung, Mischung und Injektion kleinster Flüssigkeitsmengen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. L, 1909, H. 4, p. 490).

Liesegang, R. E., Zur Kritik der histologischen Färbemethoden (Zeitschr. f. Chemie u. Industrie d. Kolloïde Bd. IV, 1909, H. 1, p. 20—21; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 262).

(Mayer, A. G.,) Carbon-dioxide for killing marine Animals (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 2, p. 260; vgl. Biol. Bull. vol. XVI, 1908, p. 1).

Merlin, A. A. C. E., Note on a new growing Cell for critical Observations under the highest Powers, 2 figg. (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 1, p. 17—19).

Noack, K., Anleitung zur Selbstanfertigung eines einfachen Planktonnetzes (Mikrokosmos Bd. III, 1909/1910, No. 1).

Pritzsche, K., Typenplatten und Zierpräparate (Mikrokosmos Bd. II, 1908/1909, H. 7/8).

Roussy, G., Conservation de pièces macroscopiques dans la gélatine glycérinée en boîtes de Pétri (Compt. Rend. Soc. Biol. t. LXVI, 1909, no. 7, p. 308—309).

Sabrazès, Utilité de la coloration au bleu de méthylène, en milieu hypotoxique (Gaz. hebdomad. des Sc. méd. de Bordeaux, 1908, no. 48).

Suzuki, B., Eine einfache Schnittserienmethode bei der Celloïdineinbettung (Anat. Anz. Bd. XXXIV, 1909, No. 15, p. 358—361; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 264).

---

5. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

a. Niedere Tiere.

Boule, L., Recherches sur le système nerveux central normal du Lombric (Le Névraxe vol. X, 1909, fasc. 1, p. 15—59 av. 28 figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 268).

Dakin, W. J., Striped Muscle in the Mantle of Lamellibranche (Anat. Anzeiger Bd. XXXIV, 1909, No. 9—11, p. 227—230 m. 5 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 266.)

(**Davis, H. S.**,) Studying Spermatogenesis in Acrididae and Locustidae (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 2, p. 259; vgl. Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard vol. LIII, 1908, p. 59—158).

Legendre, R., Contribution à la connaissance de la cellule nerveuse. La cellule nerveuse d'Helix pomatia (Arch. d'anat. microscopique t. X, 1908—1909, p. 287—554 av. 2 pl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 266).

Lendvai, J., Ein neuer Apparat zur Fixierung und Färbung der einzelligen Mikroorganismen (Állattani Közlemények Budapest Bd. VIII, H. 1—2; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 265).

(**Nelson, E. M.**,) Some Hairs upon the Proboscis of the Blow-Fly (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 3, p. 399; vgl. Journ. Quekett Microsc. Club 1908, p. 227—228).

---

b. Wirbeltiere.

Boehm, P., Über den feineren Bau der Leberzellen bei verschiedenen Ernährungszuständen; zugleich ein Beitrag zur Physiologie der Leber. Beiträge zur Physiologie der Drüsen. 10. Mitteilung von LEON ASHER (Zeitschr. f. Biologie Bd. LI, 1908, H. 4 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 296).

Cajal, S. Ramón y, Les conduits de GOLGI-HOLMGREN du protoplasma nerveux et le réseau péricellulaire de la membrane (Trav. labor. Rech. biol. Univ. Madrid t. VI, 1908, fasc. 3, p. 123—135 av. 6 figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 284).

Cesaris-Demel, A., Über die morphologische Struktur und die morphologischen und chromatischen Veränderungen der Leukocyten auf Grund von Untersuchungen nach der Methode der Vitalfärbung des Blutes (VIRCHOWS Arch. Bd. CXCV, 1909, H. 1, p. 1—93 m. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 269).

Dietrich, A., Die Bedeutung der Dunkelfeldbeleuchtung für Bluntuntersuchungen, 4 Figg. (Verh. d. Berlin. med. Ges. Bd. XXXIX, 1908, Tl. 2, ersch. 1909, p. 317—325).

Da Fano, C., Über die feinen Strukturveränderungen der motorischen Kernzellen infolge verschiedenartiger Verletzungen der zugehörigen Nerven (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XLIV, 1908, H. 3, p. 495—525 m. 3 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 279).

Fischer, H., Myeloïsche Metaplasie und fötale Blutbildung und deren Histogenese. Berlin (J. Springer) 1909. 140 pp. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 273.) brosch. 4 M.

Golgi, C., Di una minuta particolarità di struttura dell' epitelio della mucosa gastrica ed intestinale di alcuni vertebrati (Arch. per le Sc. med. vol. XXXIII, 1909, fasc. 1/2, p. 1).

Herxheimer, K., Ein Beitrag zur Färbung von Hautschnitten (Dermatol. Zeitschr. Bd. XVI, H. 3, p. 139—140).

Holmgren, E., Studien über die stofflichen Veränderungen der quergestreiften Muskelfasern (Skandinav. Archiv f. Physiologie Bd. XXI, 1908, p. 287—314 m. 11 Figg. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 270).

Kadyi, H., Eine Methode zur Färbung der grauen Substanz des Gehirnes und Rückenmarkes nach Beizung mit dem Uranacetat (Verh. d. 10. Vers. der polnischen Naturforscher u. Ärzte in Lemberg, Juli 1907, Bericht in Folia Neuro-Biologica Bd. II, 1908, No. 1, p. 148—149; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 289).

Kató, H., Eine neue Neurofibrillenfärbung (Folia Neuro-Biologica Bd. II, 1908, No. 3, p. 262—264; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 281).

Kolster, R., Weitere Beiträge zur Kenntnis der Embryotrophe. III. Über den Uterus gravidus von Rangifer tarandus H. SM. (Anat. Hefte, H. 114 [Bd. XXXVIII, H. 1], 1908, p. 105—192 m. 8 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 297).

Lange, S. J. de, La méthode de Marchi (Le Névraxe vol. X, 1909, fasc. 1, p. 83—116 av. 25 figg. au texte; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 274).

Lentz, O., Über spezifische Veränderungen an den Ganglienzellen wut- und staupekranker Tiere. Ein Beitrag zu unseren Kenntnissen über die Bedeutung und Entstehung der Negrischen Körperchen (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. LXII, 1908, H. 1, p. 63—94 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 294).

Lewy, F. H., Degenerationsversuche am akustischen System des Kaninchens und der Katze. [Zugleich ein Beitrag zur Anwendung der Marchischen Methode] (Folia Neuro-Biologica Bd. II, 1909, No. 5, p. 471—518 m. 23 Figg. u. 4 Schemata; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 290).

Lhermitte, J., et **Guccione, A.,** Nouvelle méthode de coloration pour l'étude de la névroglie (cellules et fibrilles), 7 figg. (Semaine méd. Année XXIX, no. 18, p. 205—207).

Loos, O., Über die Ursachen des sogenannten Längerwerdens der Zähne bei fehlenden Antagonisten. Eine histologische Studie. Straßburg (J. H. Ed. Heitz) 1909; 70 pp. m. 2 Tfln. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 273.)

Lusk, W. C., An injecting Fluid for preserving Cadavers for Dissection (Anat. Record vol. III, no. 1).

Neubert, W., Über Glykogenbefunde in der Hypophyse und dem Zentralnervensystem (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XLV, 1909, H. 1, p. 38—88 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 278).

Pappenheimer, A. M., Über juvenile, familiäre Muskelatrophie. Zugleich ein Beitrag zur normalen Histologie des Sarkolemms (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XLIV, 1908, H. 3, p. 430—457 m. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 272).

Paulli, S., Formolinjektion zur Demonstration des Situs viscerum bei den Haussäugetieren, 4 Figg. (Anat. Anz. Bd. XXXIV, No. 16/17, p. 369—375).

Regaud, Cl., et **Favre, M.,** Granulations interstitielles et mitochondries des fibres musculaires striées (Compt. Rend. Acad. Sc. Paris t. CXLVIII, 1909, no. 10, p. 661—664; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 271).

Retterer, Éd., Amygdales et follicules clos du tube digestif [développement et structure] (Journ. de l'Anat. et de la Physiol. Année XLV, 1909, no. 3, p. 225—275 av. 2 pl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 296).

Rößle, R., u. **Yoshida, T.,** Das Gitterfasergerüst der Lymphdrüsen unter normalen und pathologischen Verhältnissen (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XLV, 1909, H. 1, p. 110—126 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 295).

Röthig, P., Zur Darstellung der Zellgruppierungen im Zentralnervensystem (Folia Neuro-Biologica Bd. II, 1909, No. 4, p. 385—388; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 282).

Savini, E., u. **Savini, Th.**, Ein neues Verfahren zur Nervenzellenfärbung (Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenkunde u. Infektionskrankh. Abt. 1, Bd. XLVIII, 1909, p. 697—701; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 285).

Traina, R., Un nuovo metodo semplice per la colorazione della sostanza colloide (Monit. Zool. Ital., Anno XX, no. 2/3, p. 60—61).

(**Wilson, G. E.**,) Studying fat-absorption in the Intestine (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 2, p. 259; vgl. Transact. Canadian Inst. vol. VIII, 1906, p. 241—258).

---

c. Mikroorganismen.

Arning, Ed., u. **Lewandowsky, F.**, Über den Nachweis nach Ziehl nicht färbbarer Leprabazillen durch Anwendung der prolongierten Gram-Färbung nach Much (Deutsche med. Wochenschr. 1908, No. 28, p. 1225).

Aßmann, G., Über eine neue Kontrastfärbung zur Darstellung intrazellulärer Tuberkelbazillen im Auswurfe (München. med. Wochenschr. Jahrg. LVI, 1909, No. 13, p. 658; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 310).

Barannikoff, J., Zur Technik der Versilberung von Spirochaete pallida [Schaudinn-Hoffmann] (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. L, 1909, H. 2, p. 263; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 309).

Bechhold, H., u. **Ziegler, J.**, Die Beeinflussung der Diffusion in Gallerten (Zeitschr. f. physik. Chemie Bd. LVI, 1906, p. 104; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 300).

Bertarelli, E., u. **Cecchetto, E.**, Weitere Untersuchungen über die Ätiologie des Trachoms (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. L, 1909, H. 1, p. 36).

Burri, R., Das Tuscheverfahren als einfaches Mittel zur Lösung einiger schwieriger Aufgaben der Bakterioskopie (absolute Reinkultur, Spirochätennachweis u. a. m.). Mit 3 Figg. im Text u. 16 Photogrammen auf 3 Tfln. 42 pp. Jena (G. Fischer) 1909. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 300.) 3 M.

Caan, A., Vergleichende Untersuchungen über neuere Methoden der Tuberkelpilzfärbung (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XLIX, 1909, H. 5, p. 637).

Ciuca, Al., et **Stoicescu, G.**, Diagnostic bactériologique du charbon par les cultures de la peau (Arhiva veterinara 1909, p. 71—85; vgl. Bull. Inst. Pasteur t. VII, 1909, p. 606).

Dieudonné, A., Blutalkaliagar, ein Elektivnährboden für Choleravibrionen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. L, 1909, H. 1, p. 107; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 306).

Dobell, Cl., On the so-called „sexual“ method of spore formation in the disporic Bacteria (Quart. Journ. of Microsc. Sc. t. LIII, 1909, fasc. 3).

Doepner, Über den Wert des KINDBORGschen Säurefuchsinagars für die Typhusdiagnose (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. L, 1909, No. 5, p. 552).

Dolt, M. L., Simple synthetic media for the growth of B. coli and for its isolation from water (Journ. of Inf. Dis. t. V, 1908, p. 616; vgl. Bull. Inst. PASTEUR t. VII, 1909, p. 282).

Dünschmann, H., Etudes sur la fièvre typhoide (Ann. Inst. PASTEUR t. XXIII, 1909, p. 29—69).

Eisenberg, Ph., Weitere Untersuchungen über Fetteinschlüsse bei Bakterien (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. LI, 1909, H. 2, p. 115).

Ellermann, V., u. **Erlandsen, A.**, Nachweis von Tuberkelbazillen im Sputum (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. LXI, 1908, H. 2, p. 218; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 311).

Grüter, W., Die Methämoglobinbildung in bluthaltigen Nährböden durch Streptokokken (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. L, 1909, H. 2, p. 241).

Guth, F., Zum Nachweis von Typhus- und Paratyphusbakterien (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. LI, 1909, H. 2, p. 190; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 304).

Harris, D. L., A method for the staining of NEGRI bodies (Journ. of Inf. Dis. t. V, 1908, p. 566; vgl. Bull. Inst. PASTEUR t. VII, 1909, p. 346).

Hart, C., Über die Herstellung der Bakteriennährböden aus künstlichen Bouillonpräparaten (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. L, 1909, H. 4, p. 494; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 301).

Huntemüller, Der DIEUDONNÉsche Blut-Alkaliagar (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. L, 1909, H. 1, p. 109).

Kitt, Th., Eine praktische Pipette für Serodiagnostik und Bakterienzüchtung (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. L, 1909, H. 4, p. 646).

Klimenko, W. N., Morphologie und Biologie des Keuchhustenbazillus (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. L, 1909, H. 3, p. 305).

Kühl, H., Die bakteriologische Untersuchung des Darminhalts (Zeitschr. f. angew. Mikrosk. Bd. XIV, 1909, H. 11, p. 281).

Levaditi, C., et **McIntosh, J.**, Contribution à l'étude de la culture de Treponema pallidum (Ann. de l'Inst. PASTEUR t. XXI, 1907, no. 10, p. 784).

Liebermeister, G., Über die nach ZIEHL nicht darstellbare Form (Deutsche med. Wochenschr. 1909, No. 28, p. 1224).

Lippens, Sur une réaction différentielle du Bacterium coli et du Bacille typhique (Compt. Rend. Soc. Biol. t. LXVI, 1909, p. 95; vgl. Bull. Inst. PASTEUR t. VII, 1909, p. 283).

Löffler, F., Walter, E., Dibbelt, E., u. **Wehrlin, J.**, Ein neues Verfahren zum Nachweise und zur Differentialdiagnose der Typhusbakterien mittels Malachitgrün-Safranin-Reinblau-Nährböden (Deutsche med. Wochenschr. 1909, No. 30, p. 1297; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 302).

Marmann, Ein neues Verfahren zum quantitativen Nachweis des Bacterium coli in Wasser; zugleich ein Beitrag zum Verhalten dieses Keimes in Flüssen und Schwimmbassins (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. L, 1909, H. 2, p. 267; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 306).

Marpmann, Über die Kultur hämoglobinophiler Bakterien auf sterilisiertem Blutagar (Zeitschr. f. angew. Mikrosk. Bd. XV, 1909, H. 1, p. 1; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 306).

Marzinowski, E. J., Über die Züchtung von Piroplasma equi (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. LXII, 1909, H. 3, p. 417; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 308).

Mestrezat, W., et **Gaujoux, E.**, Exagération de la perméabilité méningée aux nitrates; diagnostic de la méningite tuberculeuse (Compt. Rend. Soc. Biol. t. LXVI, 1909, p. 533, 637; vgl. Bull. Inst. Pasteur t. VII, 1909, p. 606).

Miehe, H., Beiträge zur Biologie, Morphologie und Systematik des Tuberkelbazillus (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. XXXVI, 1908, H. 1, p. 131; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 301).

Morelli, G., Über ein neues Verfahren zum Nachweis von Indol auf Nährsubstraten (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. L, 1909, H. 3, p. 413).

Mühlens, Reinzüchtung einer Spirochaete (Spirochaete pallida?) aus einer syphilitischen Drüse (Deutsche med. Wochenschr. 1909, No. 29, p. 1261).

Neri, F., Le diagnostic rapide de la rage. Nouvelle méthode de coloration des corps de Negri (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. L, 1909, H. 3, p. 409; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 307).

Panisset, L., A propos du diagnostic de la morve. Vaginalité expérimentale à bacille de Koch (Bull. Soc. Sc. vét. de Lyon 1909; vgl. Bull. Inst. Pasteur t. VII, 1909, p. 607).

(**Perrin, P. G.**,) Staining Treponema pallida (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 2, p. 262; vgl. Bol. Inst. Alfonso XIII vol. IV, 1908, 103 pp.).

Reichert, K., Über die Sichtbarmachung der Geißeln und die Geißelbewegung der Bakterien (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. LI, 1909, H. 1, p. 14).

Rosenthal, W., Filtrierapparat zur Gewinnung keimfreier Filtrate und insbesondere zur Erprobung verschiedener Filtersubstanzen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XLV, 1907, H. 6, p. 563).

Schereschewsky, J., Züchtung der Spirochaete pallida Schaudinn (Deutsche med. Wochenschr. 1909, No. 19, p. 835; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 307).

Schereschewsky, J., Weitere Mitteilung über die Züchtung der Spirochaete pallida (Deutsche med. Wochenschr. 1909, No. 29, p. 1260; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 307).

Schindler, H., Über Malachitgrünnährböden (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. LXIII, 1909, H. 1, p. 90; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 305).

Sicre, A., Au sujet du rouge neutre comme indice du colibacille (Compt. Rend. Soc. Biol. t. LXVI, 1909, p. 152; vgl. Bull. Inst. Pasteur t. VII, 1909, p. 283).

Stephan, S., Über eine besonders für Schnittfärbungen brauchbare Modifikation der GRAMschen Färbungsmethode (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. LI, 1909, H. 1, p. 94; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 309).

Swellengrebel, N. H., Neuere Untersuchungen über die vergleichende Cytologie der Spirillen und Spirochäten (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XLIX, 1908, H. 4, p. 529; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 308).

Terni, C., Contribution à l'étude de la variole et du vaccin et des autres maladies similaires (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. L, 1909, H. 1, p. 23).

Vincenzi, L., Zur kulturellen Unterscheidung zweier Pseudotuberkulosebazillen (Bacillus PFEIFFER und Bacillo opale agliaceo VINCENZI) der Nagetiere (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. L, 1909, H. 1, p. 2).

Werbitzki, F. W., Ein neuer Nährboden zum Nachweis der Typhusbazillen in Faeces (Arch. f. Hygiene Bd. LXIX, 1909, H. 2, p. 191; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 305).

Werbitzki, F. W., Untersuchungen über den diagnostischen Wert einiger Nährböden für den Nachweis von Typhusbazillen in Faeces (Arch. f. Hygiene Bd. LXIX, 1909, H. 1, p. 71; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 305).

Wolff-Eisner, A., Ein neuer leistungsfähiger Schüttelapparat in Verbindung mit einem Thermostaten (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XLIX, 1909, H. 5, p. 654).

---

d. Botanisches.

Andreesen, A., Beiträge zur Kenntnis der Desmidiaceen (Flora Bd. XCIX, 1902, H. 4, p. 373—413; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 316).

Blakeslee, A. F., A method of sending pure cultures of fungi (Science N. S. vol. XXVII, 1908, no. 703, p. 960—961).

Boresch, K., Über Gummifluß bei Bromeliaceen nebst Beiträgen zu ihrer Anatomie (Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien, math.-naturwiss. Kl., Bd. CXVII, Abt. 1, 1908, p. 1033—1080 m. 3 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 320).

Guttenberg, H. Ritter v., Cytologische Studien an Synchytriumgallen (Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. XLVI, 1909, p. 453; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 316).

Harder, R., Beiträge zur Kenntnis von Xylaria hypoxylon L. (Naturwiss. Zeitschr. f. Forst- u. Landwirtsch. 1909, H. 8/9).

Himmelbaur, W., Die Mikropylenverschlüsse der Gymnospermen mit besonderer Berücksichtigung derjenigen von Larix decidua (Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien, math.-naturwiss. Kl., Bd. CXVII, Abt. 1, 1908, p. 3; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 320).

Küster, E., Eine kultivierbare Peridinee (Arch. f. Protistenkunde Bd. XI, 1908, p. 351; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 316).

Kurssanow, L., Beiträge zur Cytologie der Florideen (Flora Bd. XCIX, 1909, H. 4, p. 311—336; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 313).

Lavy de Latour, Ev. de, Sur les particularités cytologiques du développement des cellules-mères du pollen de l'Agave attenuata (Compt. Rend. Acad. Sc. Paris t. CXLVI, 1908, p. 832).

Lidforss, B., Untersuchungen über die Reizbewegungen der Pollenschläuche. I. Der Chemotropismus (Zeitschr. f. Botan. Bd. I, 1909, H. 7, p. 443; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 316).

Lundegårdh, H., Über Reduktionsteilung in den Pollenmutterzellen einiger dikotylen Pflanzen (Svensk Bot. Tidskrift Bd. III, 1909, H. 1, p. 78—124).

Mangin, L., Observations sur les Diatomées (Ann. Sc. nat., Botanique, sér. 9, t. VIII, 1908, p. 177; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 313).

Merton, H., Über den Bau und die Fortpflanzung von Pleodorina illinoisensis Kofoid (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XC, 1908, p. 445—477 m. 2 Figg. u. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 314).

Modilewski, J., Zur Embryobildung von Euphorbia procera (Ber. d. d. bot. Ges. Bd. XXVII, 1909, H. 1, p. 21; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 318).

Neger, F. W., Beobachtungen und Erfahrungen über Krankheiten einiger Gehölzsamen (Tharandter forstlich. Jahrbuch Bd. LX, 1909, p. 222—252).

Niemann, G., Über den Bau und die Biologie pflanzlicher Zellwände nebst Anleitung zu ihrer Untersuchung (Mikrokosmos Bd. III, 1909/1910, No. 4/5).

Nieuwland, J. A., The mounting of algae (Botan. Gaz. vol. XLVII, 1909, no. 3, p. 237—238; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 312).

Prodinger, M., Das Periderm der Rosaceen in systematischer Beziehung (Denkschr. d. math.-naturwiss. Kl. d. K. Akad. Wiss. Wien Bd. LXXXIV, 1908, p. 329; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 320).

Richter, O., Zur Physiologie der Diatomeen (II. Mitteilung): Die Biologie der Nitzschia putrida Benecke (Denkschriften d. Akad. d. Wiss. Wien; math.-naturwiss. Kl., Bd. LXXXIV, 1909, p. 660—772; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 315).

Rosenberg, O., Cytologische und morphologische Studien an Drosera longifolia + rotundifolia (Kungl. Svenska Vetensk. Akad. Handl. Bd. XLIII, 1909, No. 11; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 319).

Rosenberg, O., Über den Bau des Ruhekerns (Svensk Bot. Tidskrift Bd. III, 1909, H. 2, p. 163—173).

Rosenberg, O., Über die Chromosomenzahl bei Taraxacum und Rosa (Svensk Bot. Tidskrift Bd. III, 1909, H. 2, p. 150—162).

Rosendahl, H. V., Mikroskopik analys at bröd fynd från 400—500-talen (Svensk bot. Tidskr. Bd. III, 1, p. 41—46 m. deutschem Resumé).

Schaffner, J. H., The reduction division in the microsporocytes of Agave virginica (Botan. Gaz. vol. XLVII, 1909, no. 3, p. 198—214 w. 3 plts.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 320).

Schikorra, W., Über die Entwicklungsgeschichte von Monascus (Zeitschr. f. Botan. Bd. I, 1909, H. 6, p. 379; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 316).

Senn, G., Schwimmblase und Interkostalstreifen einer neukaledonischen Wasserform von Marsilia (Ber. d. d. bot. Ges. Bd. XXVII, 1909, p. 111).

Sigmund, Fr., Über die Technik, in Algenkulturen Fortpflanzungszustände zu erzielen, zu beobachten und Dauerpräparate herzustellen (Mikrokosmos Bd. III, 1909/1910, H. 4/5).

Wilson, M., On spore formation and nuclear division in Mnium horminum (Ann. of Bot. vol. LXXXIX, 1909, p. 141; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 317).

Wisselingh, C. v., Zur Physiologie der Spirogyrazelle (Beih. z. botan. Zentralbl. Bd. XXIV, 1908, Abt. 1, p. 133; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 314).

Yamanouchi, Sh., Mitosis in Fucus; Contributions from the Hull Botan. Labor. 124 (Botan. Gaz. vol. XLVII, 1909, no. 3, p. 173—197 w. 2 plts.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 314).

Zach, F., Über den in den Wurzelknöllchen von Elaeagnus angustifolia und Alnus glutinosa lebenden Fadenpilz (Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien, math.-naturwiss. Kl., Bd. CXVII, Abt. 1, 1908, p. 973; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 316).

---

e. Mineralogisch-Petrographisches. — Physikalisches.

Delkeskamp, R., Mineralogisch-geologische Untersuchungsmethoden in ihrer Bedeutung für den Balneologen (Internat. Mineralquellen-Zeitg. Jahrg. X, 1909, No. 207).

Delkeskamp, R., Die Mikrophotographie in ihrer Bedeutung für Mineralogie, Petrographie und Paläontologie (Zeitschr. f. Mineral., Geol. u. Paläont. Jahrg. II, 1908, No. 17, p. 225).

(**Gallo, G.**,) Microscopic study of Mortar (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 2, p. 264; vgl. Journ. Chem. Soc. vol. XCIV, 1908, p. 843—844; Gaz. Chimica ital. vol. XXXVIII, 1908, p. 142—204).

(**Jude, A.**,) Microstructur and mechanical properties of steel (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 2, p. 265; vgl. Engineering vol. LXXXVI, 1908, p. 772).

(**Reissig, J.**,) Ultra-microscopic observations (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 3, p. 404; vgl. Journ. Chem. Soc. vol. XCIV, 1908, p. 697—698; Bull. Soc. Chim. t. III, 1908, p. 1—46).

(**Révillon, L.**, a. **Beauverie, P.**,) Colour-photography in Metallography (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 2, p. 263; vgl. Rev. Métallurgique vol. V, 1908, p. 885—886).

Rohland, P., Die Kolloïdchemie und die Zement- und Tonmaterialien (Zeitschr. f. Chemie u. Industrie d. Kolloïde Bd. IV, 1909, H. 5, p. 223).

(**Stern, E.**,) Micrography of cement (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 2, p. 264; vgl. Stahl u. Eisen Bd. XXVIII, 1908, p. 1542—1546).

Autorenregister.

Das vorliegende Heft (XXVI, 2) enthält Referate über die Arbeiten folgender Autoren:

Verlag von S. Hirzel in Leipzig

JAHRESBERICHT

über die Fortschritte in der Lehre von den

PATHOGENEN MIKROORGANISMEN

umfassend

BAKTERIEN, PILZE UND PROTOZOËN

Unter Mitwirkung von Fachgenossen bearbeitet

und herausgegeben

von

Dr. med. P. von BAUMGARTEN

o. ö. Professor der Pathologie an der Universität Tübingen

und

Dr. med. F. TANGL

o. ö. Professor der allgemeinen und experimentellen Pathologie an der Universität Budapest

Die Baumgarten'schen Jahresberichte erscheinen jährlich in einem Bande zum Preise von 30—40 Mark. Sie geben Auskunft über die gesamten bakteriologischen Forschungen auf der ganzen Welt und bilden so ein Nachschlagebuch, das auf dem Arbeitstische des medizinischen Forschers nicht fehlen darf. Bis jetzt sind Band I—XXII (1885—1906) erschienen.

ZEITSCHRIFT

FÜR

WISSENSCHAFTLICHE

MIKROSKOPIE

UND FÜR

MIKROSKOPISCHE TECHNIK

BEGRÜNDET VON W. J. BEHRENS

Unter besonderer Mitwirkung

von

Prof. Dr. P. Schiefferdecker, in Bonn und **Prof. Dr. E. Sommerfeldt** in Tübingen

Prof. Dr. W. Gebhardt
in Halle a. S.

herausgegeben

von

Prof. Dr. ERNST KÜSTER
in Kiel

Band XXVI, Heft 3

Heft 103

Ausgegeben am 18. Januar 1910

Mit 18 Textabbildungen und 4 Tafeln

LEIPZIG
Königstrasse 2
VERLAG VON S. HIRZEL
1909

Alle Sendungen von Beiträgen für die Zeitschrift erbittet man an den Herausgeber, ***Herrn Prof. Dr. Ernst Küster in Kiel*** *(Bartelsallee 7); die Sendungen von Drucksachen durch die Post an denselben oder auf Buch-*

Inhalt.

Nachdruck verboten. Übersetzungsrecht vorbehalten.

Etwaiger Nachdruck aus dieser Zeitschrift findet ohne Erlaubnis und ohne Wissen von Herausgeber und Verleger statt.

Dieses Heft enthält je eine Beilage der Firma **Carl Zeiß in Jena** und der Buchhandlung von **Th. Stauffer in Leipzig**, auf die besonders hingewiesen wird.

LIBRARY
NEW YORK
BOTANICAL
GARDEN.

[Aus dem pathologischen Museum der Universität Berlin.]

Neue Methoden zur Untersuchung des Zentralnervensystems der Vertebraten.

Von

Bernhard Rawitz
in Berlin.

Hierzu eine Tafel (Tab. II).

Der bekannte Madagaskar-Forscher Prof. Völtzkow hat mich mit der Untersuchung des Zentralnervensystems der von ihm gesammelten madagassischen Reptilien betraut. Obwohl das Material ganz vorzüglich in Formol konserviert ist, überzeugte ich mich bald, daß ich mit den bisher allgemein üblichen Methoden der Untersuchung von Gehirn und Rückenmark der Vertebraten nicht zum Ziele, d. h. nicht zu brauchbaren, Textur und Struktur klar darlegenden Präparaten gelangen würde. Denn meine Aufgabe sehe ich darin, Art und Verteilung der Zellen, Art und Verteilung der Nervenfasern im Zentralnervensystem der genannten Tiere gleichzeitig zur Anschauung zu bringen. Die berühmte Weigertsche Hämatoxylinmethode war also nicht anwendbar und alle anderen Färbungsmittel, auch das von mir sonst als vorzüglich wenigstens für Rückenmarkschnitte befundene Coeruleïn S (vgl. Rawitz, Lehrbuch der mikroskopischen Technik 1907, p. 184), versagten völlig. Ich mußte daher nach einer brauchbaren Nachfixierung und nach geeigneten Färbungsmethoden suchen, die zugleich auf das Zentral-

nervensystem anderer Vertebratenklassen anwendbar waren. Was ich hierbei gefunden, unterbreite ich in den nachfolgenden Zeilen der Kenntnisnahme und Kritik der Fachgenossen. Ich will aber gleich von vornherein folgendes hervorheben: Die empfohlenen Färbungsmethoden sind nur nach Anwendung der zu beschreibenden Nachfixierung zu benutzen. Namentlich die Azosäureblaufärbung versagte mir bei jeder anderen Fixierung und Härtung des Zentralnervensystems. Wenn daher jemand meine Färbungen mit dem gleichen Erfolge, wie ich ihn hatte, nachprüfen will, so muß er die etwas zeitraubende Nachfixierung und Härtung von Gehirn und Rückenmark vorher ausgeführt haben.

I. Methode der Nachfixierung.

Stücke von Gehirn und Rückenmark, die von einem in 10prozentigem Formol konservierten Material stammen, kommen mit der Pia in folgenden Jodalkohol:

Tinctura Jodi (Pharm. Germ. IV)	10 cc
93- bis 95prozentiger Alkohol	90 „

Es ist gleichgültig, wie lange das Material bereits in Formol gelegen hat; von Wichtigkeit ist nur, daß die Formolisierung eine gleichmäßige und gründliche ist. Auf den Umfang, d. h. auf die Größe des Querschnittes kommt es bei den einzulegenden Stücken ebensowenig an, wie auf ihre Länge. Man muß nur entsprechend viel Jodalkohol nehmen; und zwar sind bei mehreren (bis zu 8) sehr kleinen Objekten mindestens 100 cc, bei mehreren größeren (bis zu 6) mindestens 200 cc erforderlich. Der einmal benutzte Jodalkohol kann etwa noch 3- bis 4mal mit gleichem Erfolge gebraucht werden, wird aber dann zu jodschwach.

In dem Jodalkohol bleibt alles Material, möge es sich um voluminöse oder um wenig voluminöse Stücke handeln, genau 5 Tage, nicht längere aber auch nicht kürzere Zeit. Dann ist alles gleichmäßig jodiert. Es scheint, als ob die reine Formolkonservierung das Eindringen des Jodalkohol erleichtere. Denn wenn man frisches Material in Jodalkohol bringt, dann ist nach meinen Erfahrungen nach 5 Tagen die Jodierung durchaus noch nicht beendet. Und wenn man statt mit bloßem Formol auf andere Weise vorbehandeltes

Material jodieren will, so dringt das Jod ebenfalls sehr langsam, oft gar nicht ein. Es sei hierfür nur erwähnt, daß Zentralnervensystem, das nach der bekannten trefflichen KAISERLINGschen Methode konserviert war, der Jodierung dann nicht zu unterziehen ist, wenn man es aus der dritten, der Aufbewahrungsflüssigkeit entnimmt. Wahrscheinlich hindert, wie Herr KAISERLING meinte, deren starker Glyzeringehalt das Eindringen des Jods.

Aus dem Jodalkohol wird das Material direkt in ein großes Quantum kalt gesättigter wässeriger Lösung von Kaliumbichromat gebracht. Man braucht hierbei keine Inkonvenienzen zu befürchten. Wohl schwimmt das Material, weil es aus Alkohol kommt, anfänglich auf der wässerigen Lösung. Aber es entstehen dadurch keinerlei Niederschläge, weder in der Kaliumlösung noch im Präparat. Und auch heftige Diffusionsströmungen bleiben völlig aus. (Man sieht, es handelt sich hier um eine Modifikation der altehrwürdigen BETZschen Methode, welche von der neueren Forschung mit Unrecht ganz vernachlässigt worden ist. Vgl. mein Lehrbuch der mikroskopischen Technik, p. 345.)

Nach 24 Stunden wird das Kaliumbichromat gewechselt und in der neuen Lösung bleiben die Objekte bis zur Beendigung der Chromierung. Diese ist bei wenig umfänglichen Stücken nach 7, also im ganzen 8 Tagen, bei voluminöseren nach 9, also im ganzen 10 Tagen vollendet. Ein längeres Belassen im Kaliumbichromat ist entschieden zu widerraten, weil dadurch die Färbungsfähigkeit des Materials leidet.

Nach 8 bzw. 10 Tagen werden die Stücke aus der Lösung des Chromsalzes herausgenommen, auf Filtrierpapier gut abgetrocknet, direkt, d. h. ohne Auswaschen, in 93- bis 95prozentigen Alkohol übertragen und möglichst dunkel aufbewahrt. Ich sagte eben „ohne Auswaschen". Man muß sich nämlich sorgfältig hüten, das Material vor beendeter Einbettung mit reinem Wasser in Berührung zu bringen, weil dadurch nach meinen Erfahrungen jeder färberische Effekt verloren geht.

Interessant und wichtig ist die Tatsache, daß auch nach 10tägiger Chromierung das Jod nicht völlig aus dem Material ausgetrieben ist. Denn wenn man letzteres zum Abtrocknen auf Filtrierpapier gelegt hat, dann ist am Rande des so entstandenen gelben Fleckens ein schwacher blauer Streifen vorhanden. Indessen würde man fehlgehen, wollte man das Wesen der geschilderten Nachfixierung in der Jodierung allein sehen. Ohne Chromhärtung sind die später zu

beschreibenden färberischen Effekte ebensowenig zu erzielen, wie ohne voraufgegangene Jodbehandlung.

Die Hauptsache von nun ab ist, den Aufenthalt des jodchromierten Materials im Alkohol auf die zulässig kürzeste Zeit einzuschränken. Daher wird nach 3 Tagen in absoluten Alkohol übertragen, der in großer Menge zu nehmen ist. In letzterem bleibt das Material je nach Größe einen bis höchstens 2 Tage und wird dann in Chloroform übergeführt. Nach 2 Tagen kommt es in Chloroform-Paraffin, wird in den Paraffinschrank für 24 Stunden gestellt; dann 2 Stunden reines Paraffin und Einschmelzen. In Paraffin können die eingebetteten Objekte beliebig lange bleiben.

Die Nachfixierung nimmt also ziemlich viel Zeit in Anspruch; es dauert 20 bis 23 Tage, ehe das Material schnittfertig ist. Zwar kann man, statt in absoluten Alkohol behufs Paraffinierung zu übertragen, aus dem gewöhnlichen Laboratoriumsalkohol Schnitte nach vorheriger Umrandung feucht anfertigen. Ich ziehe aber die Paraffineinschmelzung vor; denn erstens hält sich das Material besser, weil langer Aufenthalt in Alkohol die Färbungsmöglichkeit aufhebt, und zweitens kann man selbst dickere Schnitte — bis 20 μ — bequem aufkleben und daher umfangreiche Serien anfertigen. Die dicken Frikasseeschnitte, welche für die Chromsilbermethode üblich sind, müssen allerdings hier vermieden werden, da sonst die zu intensive Färbung nichts mehr erkennen läßt.

Ob diese modifizierte Betzsche Methode für Celloïdineinbettung sich eignet, habe ich nicht geprüft.

Vor Einbringung in die Farbflotten sind die aufgeklebten Schnitte gut (1/2 Stunde) in destilliertem Wasser auszuwaschen, damit etwa im Material zurückgebliebenes Kaliumbichromat völlig aufgelöst wird.

Zur Färbung sind die Karmine und mein Coeruleïn S nicht verwendbar. Dagegen ist die Färbungsfähigkeit für mein Glyzerinalaunhämateïn, mein Nitrohämateïn (vgl. diese Zeitschr. Bd. XXV, 1908), für polychromes und gewöhnliches Methylenblau gut erhalten. Freilich gehen die Farbstoffe etwas schwerer als sonst an das Material heran; daher ist das zuerst genannte Hämateïn nicht so stark zu verdünnen, wie ich es empfohlen habe (vgl. mein „Lehrbuch“ usw. p. 173). Und ferner waschen sich die Methylenblaufärbungen sehr leicht wieder aus. Man muß bei letzteren darum die Entfärbung gut überwachen. Gelungene Hämateïnfärbungen aber geben ganz ausgezeichnete Bilder auch von den sonst schwer färbbaren Zellen

der Großhirnrinde. Und nach Behandlung mit Methylenblau sind die Nisslschen Körperchen vortrefflich zu sehen. Das Material hat also durch die relativ komplizierte und lang dauernde Nachfixierung in keiner Weise gelitten.

Besser aber, weil einfacher in ihrer Anwendung, zuverlässiger in ihren Wirkungen und, soweit das Azosäureblau in Frage kommt, bedeutsamer im färberischen Resultat sind die nunmehr zu schildernden neuen Färbungsmethoden.

II. Methoden der Färbung.

a) Indulin.

Durch das liebenswürdige Entgegenkommen der Elberfelder Farbenfabriken, vorm. Fr. Bayer & Co., erhielt ich folgende Induline zur Prüfung zugesandt: Indulin grünlich, Indulin R, Indulin B, Indulin 6 B. Am besten hat sich mir das Indulin grünlich bewährt, dann Indulin 6 B, während Indulin B und Indulin R keine annehmbaren Resultate lieferten.

Ich verwende den Farbstoff, der merkwürdigerweise in der histologischen Technik bisher außer für eosinophile Granula nicht die ihm gebührende Beachtung gefunden hat, in folgender Form:

Indulin grünl. (Elberfeld)	1·0 g
Aluminiumammoniumsulfat (Kahlbaum) . . .	10·0 „
Aqua destillata	200 cc

Man kocht im Glaskolben auf dem Sandbade. Die Lösung schäumt dabei stark auf und man muß daher gut aufpassen, damit sie nicht aus dem Glaskolben austritt. Wenn das Schäumen beginnt, hebt man deswegen den Kolben vom Sandbade herunter, wartet, bis sich die Flüssigkeit beruhigt hat, kocht dann von neuem und wiederholt die Prozedur etwa 3- bis 4mal. Dann läßt man die Farbflotte langsam abkühlen und filtriert vor völligem Erkalten. Ist gut gekocht worden, dann darf nur ein geringer Filterrückstand bleiben. Die Haltbarkeit der Lösung scheint eine gute zu sein; denn jetzt, 6 Monate nach ihrer Anfertigung, hat sie weder etwas von ihrer Färbekraft eingebüßt noch zeigt sie irgendwelche Spuren der Zersetzung. Wohl ist ein leichter Bodensatz entstanden und auch die Wände der Glasflasche sind etwas angefärbt, die Brauch-

barkeit der Farbflotte ist aber unverändert die gleiche, wie am ersten Tage.

In der angegebenen Konzentration wirkt der Farbstoff zu intensiv; man muß ihn daher bei der Anwendung verdünnen, und zwar nehme ich für meine Zwecke eine 4prozentige Verdünnung (4 Farblösung zu 96 Wasser). In dieser bleiben die aufgeklebten Schnitte 24 Stunden, werden dann in destilliertem Wasser abgespült und in Alkohol übergeführt. Allzulange brauchen sie in letzterem nicht zu verweilen, nur so lange wie nötig ist, um die Aufhellung in Bergamottöl zu gestatten. Es geht im Alkohol wenig Farbstoff aus. Das färberische Resultat ist das folgende: Alles ist dunkelblau gefärbt; aber Ganglienzellen, zentrale Nervenfasern und Gliakerne unterscheiden sich durch zarte Nuancen so deutlich voneinander, daß die Homogenität der Färbung nur eine scheinbare ist. In der Glia sind die Achsenzylinder deutlich erkennbar; die Markscheiden sind ungefärbt. Eine Kombination oder vielmehr eine Nachfärbung mit dünner Pikrinsäure oder mit dem von Weigert modifizierten verdünnten van Giesonschen Säurefuchsin-Pikrinsäure-Gemisch kann man vornehmen, sie hat aber keinen rechten Wert. Denn das Säurefuchsin kommt färberisch gar nicht zur Geltung und die Pikrinsäure alteriert die Indulinnuance kaum wahrnehmbar, sondern färbt nur die Markscheiden leicht gelb.

Für Demonstrationsobjekte und schnell herzustellende Kurspräparate dürfte der Indulinalaun um so mehr sich empfehlen, als die Karmine des Handels von Tag zu Tag schlechter und daher ganz unverwendbar werden.

b) Indaminblau.

Die Höchster Farbwerke, vorm. Meister Lucius & Brüning, hatten die Liebenswürdigkeit, mir, wie die Elberfelder Farbenfabriken, eine Anzahl der von ihnen fabrizierten Induline zu Versuchszwecken zur Verfügung zu stellen. Bewährt hat sich mir das Indaminblau und zwar in folgender Zusammensetzung:

Indaminblau N extra (Höchst)	2·0 g
Natrium sulfuricum (Kahlbaum)	10·0 „
Aqua destillata	200 cc

Man erhitzt auf dem Sandbade. Es dauert ziemlich lange bis die Mischung kocht; man läßt einmal aufwellen, hebt dann vom

Sandbade herunter und läßt langsam erkalten. Eine Filtration ist nicht nötig, sondern man gießt die kalte Flüssigkeit vorsichtig vom Bodensatz ab.

Auch dieser Farbstoff, der einen Stich ins Violette hat, scheint sich gut zu halten, obwohl die Wandung der Glasflasche allmählich sich viel intensiver färbt als beim Indulinalaun. Die Färbekraft des Indaminblau ist eine ganz außerordentlich große. In 4prozentiger Verdünnung, wie beim Indulinalaun, ist die Färbung der aufgeklebten Schnitte schon nach 2 Stunden beendet. Ich wähle gewöhnlich eine 2prozentige Verdünnung (2 Farbflotte, 98 Wasser) und lasse die Schnitte 24 Stunden darin. Dann gutes Abwaschen in destilliertem Wasser, gutes Entwässern in gewöhnlichem Laboratoriumsalkohol, Bergamottöl und Balsam oder Dammar. In Wasser und Alkohol wird etwas mehr Farbstoff ausgezogen als beim Indulinalaun. Doch braucht man eine völlige Entfärbung nicht zu besorgen, wenn man den Wasch- bzw. Entwässerungsprozeß nicht ungebührlich in die Länge zieht.

Der färberische Effekt ist genau der gleiche wie nach Anwendung des Indulinalauns, nur daß alles mehr einen Stich ins Violette hat. Aus denselben Gründen wie vorhin sei daher auch dieser Farbstoff der Aufmerksamkeit der Fachgenossen empfohlen.

c) Azosäureblau.

Vor etwa 10 Jahren hatte ich von den Höchster Farbwerken einen, wenn ich recht berichtet bin, zur Viktoriablaugruppe gehörigen Farbstoff, das Azosäureblau B, erhalten. Die seinerzeit von mir angewandte Kombination ergibt ganz brauchbare Färbungen an einem in gewöhnlicher Weise nach Formolkonservierung behandelten Rückenmark. Sie versagt aber völlig bei den Zellen der Großhirnrinde und des Kleinhirns. Die damalige Kombination, welche ich der Vollständigkeit halber anführe, ist die folgende: Azosäureblau B (Höchst) 2 g, weinsaures Antimonkalium 1 g, Aqua destillata 200 cc. Man löst zunächst den Brechweinstein kalt in destilliertem Wasser, fügt dann den Farbstoff hinzu und wartet ab, bis auch dieser in der Kälte gelöst ist. Eine Filtration ist nicht nötig. Unverdünnt darf man diese Farblösung nicht gebrauchen, denn ihre Färbekraft ist eine ganz enorme. Sie überfärbt ungefähr so schnell und so intensiv wie die konzentriert angewandten Hämatoxyline und Hämateïne; eine nachträgliche Entfärbung mit einer Säure zerstört

aber den ganzen Farbstoff. Man muß daher bei der Anwendung sehr stark verdünnen, ungefähr so wie beim Hämatoxylin, also etwa 4 bis 5 Tropfen auf 20 bis 25 cc Aqua destillata. Rückenmarkschnitte, die von einfachem Formolmaterial stammen oder von solchem, das in Kaliumbichromat nachfixiert war — man kann sie feucht nach bloßer Umrandung des Stückes, nach Paraffineinschmelzung oder nach Celloïdineinbettung hergestellt haben —, bleiben in der Farbflotte 24 Stunden. Dann werden sie in Wasser kurz abgewaschen, ebenfalls auf kurze Zeit in Alkohol gebracht und wie üblich eingeschlossen. Die Färbung ist ein schönes Hellblau; aber sie ist sehr gleichmäßig und die Ganglienzellen des Rückenmarkes treten nicht so scharf hervor, daß man ihre Ramifikationen auf weite Strecken verfolgen könnte.

Nach mannigfachen anderen Versuchen mit diesem Farbstoff bin ich endlich zu einem, wie ich glaube, sehr beachtenswerten Resultate gelangt[1]. Zwecklos, das sei noch hervorgehoben, ist die vorstehende Schilderung darum nicht, weil ich durch sie diejenigen, welche den Farbstoff weiter untersuchen wollen, vor Zeitvergeudung glaube schützen zu können. Der vorhin erwähnte färberische Effekt gelingt übrigens bloß bei Verwendung des Brechweinsteins, denn die rein wässerige Lösung des Azosäureblau ist bei weitem nicht so brauchbar.

Vortreffliche und sehr wertvolle Resultate erhielt ich nun bei folgender Kombination:

Azosäureblau B (Höchst)	2·0 g
Brechweinstein	1·0 „
Oxalsäure	4·0 „
Aqua destillata	200 cc

Man kocht alles zusammen im Glaskolben und filtriert vor dem völligen Erkalten oder aber man läßt nach dem Kochen 24 Stunden

[1]) Das zu schildernde Resultat ist, wie ich bekennen will, durch ein Versehen von mir zustande gekommen. Ich wollte eigentlich den in der industriellen Färbetechnik verwendeten Cochenillescharlach herstellen, vergriff mich aber. Denn statt Zinnchlorür nahm ich den daneben liegenden Brechweinstein und statt der gepulverten Cochenille geriet mir das Azosäureblau in die Hände; nur die Oxalsäure hatte ich richtig ergriffen. Da die Kochgelegenheit von meinem Arbeitszimmer sehr weit entfernt ist, so zog ich es aus Bequemlichkeit vor, die zufällig und irrtümlich genommenen Substanzen zu kombinieren. Der Cochenillescharlach ist übrigens histologisch völlig wertlos.

stehen und filtriert erst dann. Im ersteren Falle schlägt sich in der Aufbewahrungsflasche ein gelbrötliches, ziegelartiges Pulver nieder, das in letzterem Falle auf dem Filter zurückbleibt. Ein Nachteil entsteht durch den Bodensatz nicht.

Durch die Kombination der Oxalsäure mit dem Brechweinstein ist ein ganz anderer Farbstoff entstanden, wie nach alleiniger Verwendung des Brechweinsteins. Die mit letzterem erhaltene Farblösung ist violett und gleicht manchen Hämateïnen in ihrem Aussehen. Die neue Farblösung erscheint dagegen in dünnen Schichten gelbrot. Die färberische Wirkung ist eine höchst interessante und merkwürdige. Ganz allgemein — die spezialisierten Angaben folgen später — ist zu bemerken: **Die Ganglienzellen im Zentralnervensystem sowie die Glia erscheinen purpurn, die Achsenzylinder hellblau gefärbt.** Und zwar wird dieser Effekt nicht bloß bei dem stets leicht sich färbenden Rückenmark erzielt, sondern er tritt auch beim Kleinhirn und an der sich immer schwer färbenden Großhirnrinde auf. Es liefert also ein und derselbe Farbstoff eine natürliche Doppelfärbung. Nur bei menschlichem Material bleibt die Blaufärbung der Achsenzylinder manchmal aus. Man hat vielfach unreine Farbstoffe, weil sie zwei verschiedene Färbungen gleichzeitig geben, als metachromatisch bezeichnet. Ich will das Azosäureblau B in der obigen Kombination einen **amphichromatischen Farbstoff** nennen. Es soll damit ausgedrückt werden, daß es sich um eine Doppelfärbung durch einen an sich reinen Farbstoff handelt und daß ferner diese Doppelfärbung vielleicht auf eine chemische Reaktion der Gewebselemente zurückzuführen ist. Letzteres ist aus folgender Tatsache zu erschließen.

Wäscht man nämlich die Glasgefäße, die mit der Farbflotte beschickt waren, mit destilliertem Wasser aus, so wird dieses durch die infolge der Kapillarattraktion an der Glaswand haftenden Farbreste rötlichgelb. Nimmt man zum Auswaschen dagegen gewöhnliches Wasser, so färbt sich dieses hellblau. Da nun jedes Leitungswasser, überhaupt jede Aqua fontana, einen leichten Grad von Alkaleszenz besitzt, so wird der mit Oxalsäure-Brechweinstein gekochte und rötlich gewordene Farbstoff durch Alkalien blau. Diese Bläuung entspricht genau dem Farbenton, welchen die zentralen Achsenzylinder annehmen. Ich möchte aber daraus nicht ohne weiteres den apodiktischen Schluß ziehen, daß die Achsenzylinder im konservierten Zustande oder gar im Leben

alkalisch reagieren. Schon darum nicht, weil die Vorbehandlung des Materials — Formol, Jodalkohol, Kaliumbichromat — sicherlich große Veränderungen in der chemischen Reaktion der einzelnen Elemente des Zentralnervensystems hervorruft. Und ferner darum nicht, weil wir über die Reaktion der wirklich lebenden, nicht bloß der überlebenden Achsenzylinder trotz der Chemie noch recht wenig Sicheres wissen. Immerhin aber ist die Gegensätzlichkeit im färberischen Verhalten von zentraler Ganglienzelle und zentralem Achsenzylinder eine sehr auffällige. Und dieses Auffallende wird noch dadurch vermehrt, daß der Nucleolus der Ganglienzelle und die Erythrocyten sich ebenfalls hellblau färben, während die Kerne in der Glia purpurn sind.

Bei der Anwendung muß die oben genannte Lösung stark verdünnt werden und ich habe denselben Konzentrationsgrad wie beim Indulinalaun als am besten geeignet erkannt. Ich nehme also eine 4prozentige Verdünnung (4 Farblösung, 96 Aqua destillata) zur Färbung. Die gut ausgewaschenen Schnitte sind darin schon nach 2 Stunden tingiert, doch scheint sich die wesentliche Differenzierung erst nach längerer Einwirkung gut auszubilden. Ich lasse daher die Schnitte 24 bis 48 Stunden in der Farbflotte, bringe sie dann auf 5 bis 10 Minuten in destilliertes Wasser, in welchem die Farbe mehr abgewaschen als ausgewaschen wird, und führe auf kurze Zeit in 93- bis 95prozentigen Alkohol über. Dann wird wie gewöhnlich montiert.

Es könnte scheinen, als sei es die Säuerung des Farbstoffes, wie sie durch die Oxalsäure bewirkt wird, welche den eben beschriebenen Effekt hervorruft. Daß dies eine irrige Annahme ist, beweisen die folgenden Tatsachen:

Läßt man nämlich den Brechweinstein in meiner Kombination weg, so erhält man durch die bloße Oxalsäure zwar eine Veränderung des Azosäureblau B, die färberische Wirkung aber entspricht nach meinen Erfahrungen nicht den vorhin in allgemeinen Zügen angegebenen Befunden. Noch weniger ist dies der Fall, wenn man den Farbstoff etwa mit einer 10prozentigen Essigsäure kocht. Wohl zeigt sich auch hier die Farbenveränderung, die allerdings mehr nach dem Blauroten, statt nach dem Gelbroten geht. Auch ist die Einwirkung des Leitungswassers auf die essigsaure Lösung die gleiche, wie beim Oxalsäure-Brechweinstein-Farbstoff. Aber das färberische Resultat ist ein ganz anderes. Es zeigt sich keine Doppelfärbung, keine natürliche Differenzierung zwischen Ganglienzelle und Achsen-

zylinder, sondern es ist alles gleichmäßig blau gefärbt, ganz wie bei meiner ersten Kombination.

Die Frage lag nahe, da, wie mir von einem Farbenchemiker gesagt worden war, das Azosäureblau zur Viktoriablaugruppe gehöre, ob nicht das Viktoriablau selber bei gleicher Behandlung ebensolche Wirkungen gibt. Daraufhin angestellte Versuche hatten ein negatives Resultat. Viktoriablau mit Oxalsäure und Brechweinstein gekocht verändert weder seinen Farbenton noch hat es irgendwelche färberischen Wirkungen, welche den erwähnten an die Seite zu stellen wären.

Schließlich will ich noch hinzufügen, daß ich nicht geprüft habe, ob meine Vorschrift für das Azosäureblau sich zur Untersuchung pathologisch veränderten Zentralnervensystems eignet, also ob Nerven- und Zelldegenerationen dadurch irgendwie schärfer als sonst hervorgehoben werden. „Non omnia possumus omnes!“

Bei der Bedeutung, welche meiner Methode nach meinem Dafürhalten zukommt, ist es wohl gerechtfertigt, wenn ich der Schilderung einige Abbildungen zufüge und diese durch ein paar Worte ausführlicher erläutere, als es bei den gewöhnlichen Tafelerklärungen üblich ist.

Figur 1 auf Tafel II stellt in 6facher Vergrößerung einen Schnitt durch die Cervicalanschwellung des Menschen dar; *d* bedeutet dorsale, *v* bedeutet ventrale Fläche. Vielleicht intensiver noch, als es meine Zeichnung wiedergibt, ist die Farbendifferenz im mikroskopischen Präparate. Sie ist jedenfalls so auffällig, wie bei keiner anderen Methode, die Weigertsche Hämatoxylinfärbung ausgenommen. Aber während bei der letzteren die graue Substanz, d. h. Glia und Ganglienzellen, ein indifferentes Braun oder Gelb zeigen, ist hier deren kontrastierende purpurne Färbung durch scharfe, distinkte Hervorhebung der Ganglienzellen, Gliakerne und Gliafasern bedingt. Die beiden letzteren Bestandteile der grauen Substanz unterscheiden sich von den Ganglienzellen so deutlich und einwandfrei, wie kaum bei einem gelungenen Karminpräparate früherer Zeiten. Und der Wert der Blaufärbung der Achsenzylinder liegt darin, daß man in der grauen Substanz auch die marklosen Fasern mit Leichtigkeit auffinden kann, was bei der Weigertschen Färbung bekanntlich eine Unmöglichkeit ist. Nur einen Fehler hat die Methode, nämlich daß sie die Ganglienzellen nicht ausschließlich, sondern auch die Neuroglia gleichfalls, und zwar sehr intensiv färbt. Einen exakten färberischen Ersatz für die Golgische Chromsilbermethode bildet sie

also leider nicht. Worauf ich ganz besonders hinweisen möchte, ist die Klarheit, mit welcher innerhalb der purpurnen grauen Substanz die disseminierten Achsenzylinderbündel, sowohl die quergeschnittenen als auch die längsgeschnittenen zu sehen sind. Interessant und, wie ich glaube, auch wichtig ist ferner, daß, wie die Figur 1 zeigt, die Pia sich in einer anderen Purpurnuance färbt wie die Glia.

Die Methode sollte für das Zentralnervensystem aller Vertebratenklassen brauchbar sein. Daß sie dies ist, zeigt Figur 2. Diese stellt einen Querschnitt durch das Rückenmark von Trygon violaceus in 30facher Vergrößerung dar. Hier wie in Figur 1 dieselben scharfen Kontraste der Färbung, welche ein solches Präparat überaus instruktiv machen. Und wie bei dem von mir untersuchten Repräsentanten der Selachier, so zeigt sich auch die gleiche Färbungsdifferenz bei den Sauropsiden. Bei den Knochenfischen dagegen — Amphibien habe ich nicht untersucht — ist die Ausprägung der grauen Substanz keine derartig deutliche. Das rührt daher, daß im Teleostierrückenmark die Neuroglia nur schwach ausgebildet ist. Und auf der intensiven Färbung der letzteren beruht der scharfe tinktoriale Gegensatz, der soeben hervorgehoben wurde. Dagegen sind die bei den Teleostiern vorhandenen Ganglienzellen stets sehr intensiv gefärbt; sie gehören zu jenem Typus von Zellen, den ich, wie später noch näher zu begründen sein wird, als pachychrome Zellen bezeichne.

Ich sagte vorhin, daß sehr bemerkenswert sei die Klarheit, mit welcher die in die graue Substanz eingebetteten Achsenzylinder färberisch hervorträten. Die Figuren 1 u. 2, an welchen mit Absicht jedes Detail weggelassen wurde — um die lithographische Wiedergabe nämlich nicht allzusehr zu erschweren —, geben dies Verhältnis in groben Zügen wieder. In Figur 3, welche ein Stück aus der ventralen Säule des Dorsalmarkes vom Hunde bei etwa 300facher Vergrößerung darstellt, ist die genannte Differenz in allen Einzelheiten mit jeder nur wünschenswerten Deutlichkeit sichtbar. Ich wenigstens kenne keine Methode, bei welcher es möglich ist, Achsenzylinder und Glia mit Ganglienzellen gleichzeitig gefärbt, und zwar kontrastierend gefärbt zu sehen. Denn man vergesse nicht, daß bei der Weigertschen Hämatoxylinmethode — die alte Säurefuchsinmethode desselben Gelehrten kommt hier gar nicht in Frage —, bei welcher das Nervenmark blau gefärbt wird, Glia und Ganglienzellen entfärbt sind.

Es scheint mir angemessen, noch einige Einzelheiten über die Zellen des Rückenmarkes hier folgen zu lassen.

Seit Urväterzeiten ist jedem Untersucher des Rückenmarkes bekannt, daß es zwei färberisch sich unterscheidende Typen von Ganglienzellen enthält. Der eine Typus färbt sich intensiv, der andere schwach, welchen Farbstoff man auch angewendet haben möge. Diese äußere und, was anatomisch natürlich nicht ohne weiteres entscheidbar ist, vielleicht auch nur äußerliche, d. h. nicht in der Funktion begründete Differenz entsteht nicht etwa dadurch, daß die intensiv sich färbenden Zellen in ihrer ganzen Dicke im Schnitte sich finden, während bei den schwach gefärbten nur ein tangential geschnittener Zellteil vorhanden ist. Sondern er beruht tatsächlich darin, daß die gesamte Zellsubstanz bei dem einen Typ sich intensiv, bei dem zweiten sich schwach färbt. Ich will die Zellen des ersten Typ von jetzt ab als pachychrome Zellen, die des zweiten als oligochrome Zellen bezeichnen.

Figur 4 gibt zwei pachychrome Zellen aus der ventralen Säule zweier Säugetiere bei 300facher Vergrößerung wieder. (Die dorsale Säule enthält anscheinend nur pachychrome Zellen.) Figur 4a stammt aus dem Cervicalmark von Erinaceus europaeus. Die Zelle, welche genau so abgebildet wurde, wie sie im Schnitt zu sehen war, ist so intensiv gefärbt, daß keinerlei Detail an ihr erkennbar ist. Namentlich ist der Kern durch die Intensität der Färbung völlig verdeckt. Figur 4b ist eine pachychrome Zelle aus der ventralen Säule des Dorsalmarkes vom Hunde. Trotz der Intensität der Färbung ist der Kern deutlich und erscheint als ein relativ kleines, dunkler als die Zellsubstanz gefärbtes Gebilde. Der große Nucleolus ist blau gefärbt. Es tritt dies bei mikroskopischer Betrachtung viel schärfer hervor, als hier in der farbigen Wiedergabe.

In Figur 5 sind zwei oligochrome Zellen bei 300facher Vergrößerung abgebildet. Sie stammen von denselben Tieren, also 5a vom Igel und 5b vom Hunde, aus demselben Schnitt, also aus derselben Region, wie die Zellen der Figur 4. Die scharfe Differenz der Färbung ist evident; und sie betrifft nicht bloß die Zellsubstanz, sondern auch den Kern. Aber während erstere, wenigstens bei der gewählten Vergrößerung, keinerlei feinere Strukturverhältnisse darbot, erkennt man in letzterem eine Art Gerüst aus feinen, unregelmäßig durcheinander geworfenen Fäden. Sehr schön, im mikroskopischen Präparate geradezu leuchtend, heben sich die kobaltblau gefärbten Nucleolen von ihrer Umgebung ab.

Eine eigenartige Stellung beansprucht mit Rücksicht auf den hier hinsichtlich der Zellen eingenommenen Standpunkt das Rückenmark von Trygon violaceus. Die Ganglienzellen dieser Spezies nämlich sind weder pachychrom noch oligochrom, sondern zeigen durchweg, ohne Ausnahme, eine mittlere Färbungsintensität. Ich will sie deswegen als mesochrome Zellen bezeichnen; in Figur 6 ist eine solche bei 300facher Vergrößerung abgebildet. Die Rückenmarkzellen von Trygon violaceus — ob auch von anderen Selachiern habe ich noch nicht untersucht — sind noch in einer anderen Hinsicht bemerkenswert, worauf ich hier gewissermaßen im Vorübergehen aufmerksam machen will. Sie zeigen nämlich schon bei der vorhin erwähnten, relativ geringen Vergrößerung eine Art von fibrillärem Bau. In homogener Grundsubstanz, die sich mesochrom gefärbt hat, liegen zarte, pachychrom gefärbte Fäden, die sich in der Zelle ganz in der Art und Weise verteilen, wie sie von Max Schultze einstmals beschrieben worden ist. In den Fäden kommen knötchenartige Verdickungen vor, welche frappant an die Nisslschen Körperchen erinnern. Nicht ganz nach dem Max Schultzeschen Schema, das manche neuere Forscher nicht mehr zu kennen scheinen, winden sich die Fäden um den Kern herum und an ihm vorbei. Figur 6 zeigt das in naturgetreuer Wiedergabe. Der Kern selber besitzt eine überaus zarte, rötlich gefärbte Granulierung und enthält einen, zwei bis drei kobaltblau gefärbte Nucleolen. Sind letztere in der Mehrzahl vorhanden, dann sind sie unter sich von verschiedener Größe.

Vom Kleinhirn und von der Großhirnrinde der Säuger habe ich keine Übersichtsbilder gegeben. Die relative Indifferenz in der Textur der genannten Teile, also die Abwesenheit besonders charakteristischer Mischungen von grauer und weißer Substanz ließen Figuren nicht nötig erscheinen. Dagegen muß ich noch einige Worte über ihre Zellen aussagen.

Die Zellen der Kleinhirn- wie der Großhirnrinde der Säuger zeigen eine meines Wissens bisher noch nicht genügend untersuchte färberische Eigentümlichkeit. Es dürfte jedem Histologen bekannt sein, daß in einem und demselben Schnitt das Verhalten der Zellen zweier benachbarter Großhirnwindungen ein ganz verschiedenes ist. In der einen Windung sind sie intensiv gefärbt, in der benachbarten haben sie jede Färbung abgelehnt. Bei den Purkinjeschen Zellen der Kleinhirnrinde ist die Situation noch komplizierter, weil hier auf der Höhe der Windung die Zellen intensiv, an deren Seiten schwach

oder gar nicht gefärbt sein können. Und umgekehrt: oft genug haben die Zellen an den Seiten den Farbstoff sehr intensiv, die auf der Höhe gar nicht angenommen. Auch die Färbung der Dendriten ist eine sehr wechselvolle, insofern deren Intensität durchaus nicht immer derjenigen direkt proportional ist, mit welcher die Zelleiber sich tingiert haben. Worauf diese Eigentümlichkeit beruht, ob etwa differente Funktionsstadien auf diese Weise zur Erscheinung kommen, das ist, soweit meine Kenntnis der Literatur reicht, bisher nicht klar gestellt worden. Diese Bemerkungen mußte ich der Figurenerklärung vorausschicken, damit bei einer Nachprüfung meiner Methode niemand in Erstaunen gerät, wenn er die alte leidige Erfahrung von neuem machen muß. Auch nach Anwendung des Azosäureblau in der hier empfohlenen Kombination trifft man diese Launenhaftigkeit in der färberischen Reaktion der Ganglienzellen der betreffenden Hirnabschnitte. Dazu kommt noch an der Kleinhirnrinde der Umstand, daß, wenn auch die Färbung eine intensive ist, sie doch keine Gleichmäßigkeit zeigt. Oft nämlich sind die Seitenteile der cerebellaren Windungen blau gefärbt, während deren Kuppen die oben beschriebene Farbennuance zeigen.

Im einzelnen ist folgendes zu sagen:

In Figur 7 sind zwei pachychrome Purkinjesche Zellen abgebildet; Figur 7a gibt eine solche des Menschen bei 300facher, Figur 7b eine von Erinaceus europaeus bei 700facher Vergrößerung wieder. In beiden ist der Kern deutlich, aber die Nucleolen waren nicht zu erkennen. Es wird nicht viel Farbstoffe geben, welche bei solcher Einfachheit des Verfahrens die Hirschgeweihverzweigung wie in Figur 7a gleich deutlich zur Erscheinung bringen.

Figur 8 stellt zwei pachychrome Pyramidenzellen der Großhirnrinde dar; Figur 8a vom Menschen bei 300facher, Figur 8b von Lemur mongoz bei 700facher Vergrößerung. Auch hier ist der Kern so intensiv gefärbt, daß die Nucleolen nicht zu sehen waren. Der Wert dieser und der in der vorigen Figur dargestellten Bilder beruht darin, daß die gefärbten Zellen mit einer sonst nicht leicht zu erreichenden Schärfe aus ihrer Umgebung hervortreten.

Figur 9 endlich gibt zwei oligochrome Zellen bei 700facher Vergrößerung; Figur 9a stammt aus dem Kleinhirn des Igels, Figur 9b aus der Großhirnrinde von Lemur mongoz. Für die oligochromen Zellen aus diesen Teilen des Zentralnervensystems scheint es charakteristisch zu sein, daß ihre Ramifikationen kaum angedeutet sind. Auffällig ist die blasse kobaltblaue Färbung der Nucleolen.

Beim Menschen habe ich oligochrome Zellen an meinem bisherigen Material weder in der Großhirn- noch in der Kleinhirnrinde angetroffen.

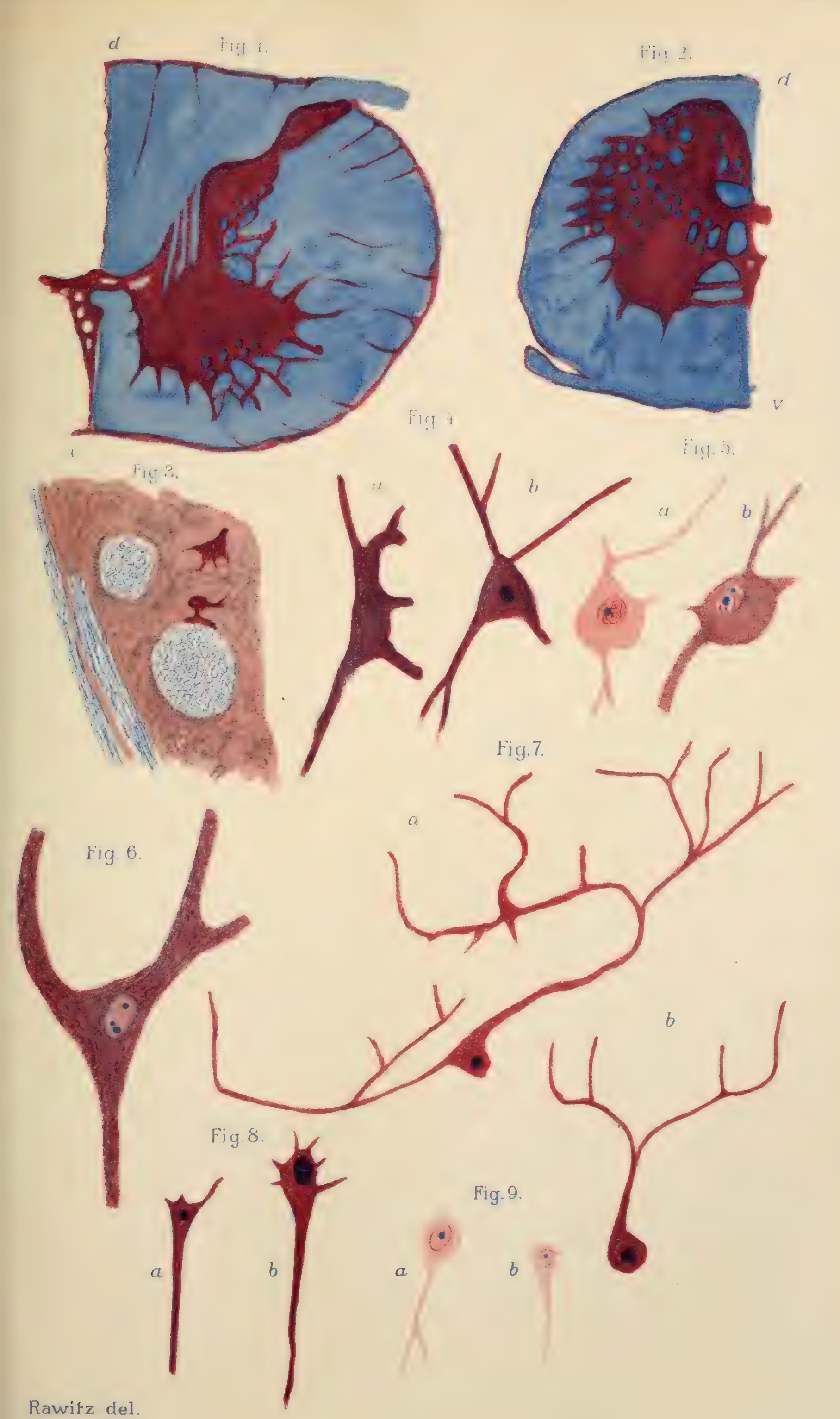
Zum Schluß will ich noch bemerken, daß ich in Schnitten durch Hirn und Rückenmark der Säugetiere den Neuriten niemals in Verbindung mit seiner Zelle gesehen — ein offenbar unglücklicher Zufall — und daher auch nicht abgebildet habe. Bei Reptilien dagegen ist mir dies fast stets gelungen, doch mußte die figürliche Wiedergabe dieses Befundes an dieser Stelle aus anderen, hier nicht interessierenden Umständen unterbleiben.

Nachschrift.

Es wurde oben, bei Schilderung der Eigentümlichkeiten der neuen Farbstoffkombination, darauf hingewiesen, daß sie auch in stärkster Verdünnung ungemein empfindlich sei gegen minimale Alkaleszenz. Vielleicht ist daher das mit Oxalsäure und Brechweinstein gekochte Azosäureblau als ein auch für chemische Untersuchungen geeignetes Reagenz zum Nachweise der alkalischen Reaktion geeignet.

Berlin, Ende Juli 1909.

[Eingegangen am 22. Juli 1909.]



Rawitz del.



Courte notice sur l'injection de quelques mollusques acéphales.

Par

B. Možejko

St-Pétersbourg.

La grande importance de l'injection comme méthode d'investigation anatomique m'a poussé à l'étudier spécialement.

Dans cette courte notice je veux exposer quelques méthodes d'injection des mollusques acéphales qui ont servi à mes études en rappelant les belles paroles de Mr. Beale: „To endeavour, to discover new methods of investigation appears to me to be one of the most important duties of every investigator."

* * *

Avant d'exposer les méthodes de l'injection même, je veux m'arrêter quelques instants sur la description des masses que j'emploie dans ce but. Après avoir étudié plusieurs masses je me suis arrêté à celle de la gélatine, celle-ci ayant les avantages suivants sur les autres véhicules.

1⁰ Son figement ne dépend que de la température, donc le volume de la masse injectée ne diminue pas en proportion de sa consolidation, comme, par exemple, cela a lieu dans les masses à la celloïdine, au collodion, etc.

2⁰ La gélatine est peu calorifère; elle peut donc rester longtemps sans se consolider dans une température beaucoup plus basse que celle de sa fusion, celle-ci dépendant de la concentration de la solution.

3⁰ La gélatine se dissout dans l'eau, et plus la solution est liquide, plus elle reste longtemps sans se consolider. En lui ajoutant assez d'eau on la rend presque fluide au froid, c'est à dire dans les conditions de la température normale d'une chambre, et tout de même elle n'est pas telle, car elle n'exige pas un réactif spécial pour être figée, un jet d'eau froide étant parfaitement suffisant. On peut donc faire à la gélatine des injections les plus

fines des capillaires aussi bien que des injections tout à fait grossières selon la concentration de sa solution. Le tableau suivant en donne une idée.

Une quandité de 25 g d'une solution de la gélatine à	33 % fondant à 56°—57°	étant réchauffé à 90° C reste liquide dans une température de 15° C pendant	45 min.
	20 % „ „ 38°—39°		1 heure
	11 % „ „ 36°—37°		1 h. 10 m.
	7 % „ „ 35°		1 h. 30 m. à 1 h. 40 m.
	5 % „ „ 34°		
	4 % „ „ 33°		
	3 % „ „ 32°		

4° Elle pénètre parfaitement dans les ramifications les plus fines des vaisseaux et passe sans la moindre difficulté à travers les capillaires.

5° Elle peut être employée toujours avec le même succès pour des injections des invertébrés aussi bien que des vertébrés, des vaisseaux sanguins, des conduits glandulaires. Ce n'est qu'à l'injection des vaisseaux lymphatiques périfériques et aux injections les plus délicates des invertébrés, comme celle, par exemple, du système excréteur des platodes ou celle du système gastro-vasculaire des acéphales, qu'elle ne peut pas être appliquée, car elle est trop grossière pour y pénétrer bien.

6° Elle peut être colorée avec toutes les couleurs qui peuvent être employées dans ce but.

7° Elle peut être très bien fixée avec tous les liquides fixateurs contenant l'acide chromique ou ses sels, ou avec la formaline. Celle-ci réagit sur la gélatine très énergiquement non seulement en contact immédiat de la solution aqueuse, mais aussi par l'action de ses vapeurs. Ella la laisse tout à fait incolore et transparente (contrairement à l'acide chromique qui la colore en jaune), mais elle lui ôte complètement sa propriété de se liquéfier sous l'influence de la température.

8° Elle peut être facilement introduite dans la paraffine ou dans la celloïdine (collodion) pour en pratiquer des coupes au microtome.

9° On peut obtenir une solution de la gélatine parfaitement pure en la filtrant à travers un filtre en papier de Suède.

On voit donc que la gélatine ayant toutes les qualités qu'on peut exiger d'une masse à injection possède celle d'être applicable aux injections les plus différentes des vertébrés et des invertébrés, également aux injections délicates et grossières. Puisque la

durée de son état liquide dépend de la concentration de la solution et de la température jusqu'à laquelle la solution a été réchauffée aussi bien que de celle de la chambre, en combinant ces conditions on parvient facilement à obtenir une injection complète des animaux assez grands, comme par exemple des chats adultes. Outre tout cela la gélatine a encore une qualité très importante qui la rend préférable aux autres masses. Puisque la solution est préparée à l'eau elle se mélange avec le sang contenu dans les vaisseaux, s'il n'est pas encore coagulé, principalement si la solution n'est pas trop concentrée.

Il existe un réactif qui prolonge la durée de l'état liquide d'une solution de la gélatine — c'est le salycilate de soude (Natr. salycil.). En ajoutant ce sel à la gélatine dissoute on parvient à ce qu'une solution qui se consolide normalement dans quarante minutes ne se fige qu'après plusieurs heures. Et même la formaline qui réagit sur la gélatine très rapidement ne la fixe dans ces conditions qu'après 2—3 heures. Là on pourrait avoir un bon moyen pour faire des injections fines aux animaux de grande taille dans lesquels le grand trajet que devrait faire la masse pour atteindre les ramifications terminales des vaisseaux et les capillaires la ferait devenir froide et se figer avant d'atteindre le but, ainsi que dans les cas où l'injection devrait être pratiquée à une température bien basse.

Tout en ayant des prérogatives incontestables la gélatine a deux inconvénients qui sont d'ailleurs faciles à éviter.

Le premier consiste en ce que ses solutions, surtout les peu concentrées, ne peuvent pas être longtemps réchauffées, car elles perdent la capacité de se consolider sous l'action du froid, et la gélatine devenue ainsi tout à fait liquide au froid exige pour sa coagulation un liquide spécial. Le second inconvénient de la masse à la gélatine consiste en ce qu'elle exige nécessairement une fixation bien prompte, car si la gélatine n'est pas fixée, elle absorbe l'eau du liquide fixateur des tissus et commence à s'écouler peu à peu. La même chose arrive si l'on plonge la préparation injectée, dont l'injection n'a pas encore été fixée, dans un alcool bien faible — à 30—40 pour cent.

Quant à la concentration des solutions de la gélatine, je n'en emploie jamais qui en contiennent plus de 10 pour cent, et ce n'est que pour les injections les plus grossières. La solidité ordinaire n'est que de trois à six pour cent. Une telle masse pénètre facilement dans les capillaires pour faire un tour complet de la circulation.

Mais l'emploi d'une solution si peu concentrée, tout en permettant d'injecter l'animal sans le réchauffer préalablement, a son inconvénient qui consiste en ce que la masse injectée après la deshydration de la préparation diminue trop en volume, et au lieu de remplir entièrement les vaisseaux injectés elle se détache de leurs parois et n'occupe qu'une petite partie de leur volume. Pour amoindrir cet inconvénient je crois qu'il serait utile d'ajouter à la masse du blanc d'œuf comme on l'emploie dans la microscopie, quoique moi-même je ne l'aie pas encore fait. On pourrait augmenter la concentration de la solution, mais ce procédé rendrait la masse moins pénétrante dans les vaisseaux, tandis que l'addition du blanc d'œuf augmenterait le volume de la masse restée dans les vaisseaux après la deshydration sans présenter l'inconvénient sus-dit. Je crois que cela serait bien, mais je répète que je n'ai pas essayé de l'appliquer. Au lieu du blanc d'œuf on emploie avec un grand succès pour le même but la substance sus-dite, c'est à dire le salycilate de soude qui prolonge le temps de l'état liquide d'une solution de gélatine la rendant ainsi bien pénétrante malgré une concentration considérable.

Le procédé que j'emploie pour préparer la gélatine à injecter est le suivant. Une telle gélatine doit être tout à fait pure, c'est à dire qu'elle ne doit pas contenir de particules solides. Cette qualité est tout à fait nécessaire, car d'elle dépend, *ceteris paribus*, la réussite de l'injection — on le comprend bien sans y insister. Il est aussi à désirer que la solution soit aussi claire que possible, car alors la couleur de la masse est plus intense après la coloration, quoique cette seconde condition ne soit pas absolument nécessaire.

Il est préférable de conserver des provisions de gélatine d'une concentration considérable, car il est plus facile de préparer une masse très colorée, comme on le verra plus bas.

On verse 200 cent. cubes d'eau distillée sur 100 g d'une gélatine blanche de qualité supérieure contenue dans un vase fermé et on la laisse jusqu'au lendemain. Le lendemain, quand la gélatine aura absorbé complètement toute la quantité d'eau et sera devenue molle on la dissout au bain d'eau à 70^0—90^0. Quand la gélatine est dissoute on commence à la filtrer à travers un filtre d'ouate hygroscopique qu'on baigne préalablement à l'eau chaude pour la laver et pour la tremper d'eau, car ceci facilite la filtration. On répète ce procédé 3—4 fois en changeant chaque fois le filtre et on obtient à la fin une solution tout à fait sans particules solides et assez claire,

concentrée à peu près de 33 pour cent. On y ajoute un tiers de la glycerine et on a une gélatine parfaitement convenable pour obtenir les masses à injections les plus délicates. Il est à remarquer ici que la glycerine produit un effet particulier sur la gélatine, du moins celle que nous pouvons avoir à St-Pétersbourg: après quelque temps la gélatine à la glycérine devient de plus en plus sombre et prend à la fin une couleur brunâtre; je ne puis m'expliquer ce phénomène.

Pour obtenir une gélatine aussi pure et aessi claire que possible, j'emploie le procédé au blanc d'œuf qui est employé dans les laboratoires de bactériologie. Ce procédé donne de très bons résultats, mais malheureusement il est très difficile de filtrer cette gélatine, car le blanc coagulé forme une couche épaisse sur le filtre, qui empêche la filtration. De même on ne réussit pas à obtenir des solutions aussi concentrées que par le procédé précédent.

Pour avoir une gélatine presque aussi claire que l'eau on prépare une solution à 10 pour cent et on la traite au blanc d'œuf. Après l'avoir filtrée à travers une couche d'ouate on répète le procédé mentionné et on la filtre à travers un filtre double en papier de Suède. On obtient ainsi une solution presque aussi incolore et aussi transparente que l'eau. Si on employait une filtration à travers une couche de charbon animal je crois qu'on obtiendrait une solution absolument incolore, quoique moi-même je n'aie pas encore employé ce procédé.

Pour préserver les provisions de la gélatine ainsi que les masses déjà colorées de la chancissure j'emploie la méthode de Hyrtl (1) qui devrait être la meilleure d'après M. Hoyer (2), c'est à dire que j'y ajoute du chloralum hydratum en quantité non inférieure à 1 pour cent. Puisque l'addition de cette substance provoque un trouble léger de la gélatine je l'ajoute avant la filtration définitive. Quand on ajoute cette substance à une gélatine destinée à servir de provision pour en préparer des masses colorées on doit en ajouter une quantité dépassant 2—3 fois le minimum pour ne pas en ajouter après la coloration.

Pour colorer la gélatine j'emploie des couleurs minérales (outre le Carmin) insolubles (outre le Bleu de Berlin).

Comme principe général on doit tâcher que la couleur soit soigneusement pulvérisée autant que possible, car ceteris paribus la réussite de l'injection dépend de cette condition autant que de la pureté de la gélatine.

Les couleurs que j'emploie sont suivantes:

Rouges: 1) Carmin nacarate (Carmin).
2) Cinnabre (Zinnober).
Oranges: 3) Orange de chrome (Chromorange).
4) Rouge de Saturne (Saturnrot).
Jaunes: 5) Jaune de chrome (Chromgelb).
Vertes: 6) Vert de Mittis (Französischgrün).
7) Cinnabre vert (Zinnobergrün).
Bleues: 8) Bleu de Prusse soluble (Leichtlösliches Berlinerblau, Grübler).
9) Outremer (Ultramarinblau).
Noire: 10) Encre de Chine (Flüssige Tusche, G. Wagner).
Blanches: 11) Blanc de Chine (Chinesischweiß).
12) Blanc d'argent (Kremserweiß).

Avant d'être employé pour servir à la coloration de la masse à injection, le carmin doit subir une préparation spéciale. Il y a beaucoup de méthodes différentes que l'on peut voir dans l'article cité de M. Hoyer et qui servent pour ce but, mais elles ont toutes deux inconvénients. L'un consiste en ce que la couleur de la masse est trop peu éclatante, ce qui la rend peu applicable aux injections macroscopiques, et l'autre c'est ce que l'acide acétique qu'on emploie pour faire précipiter une solution du carmin ammoniacale ôte à la gélatine sa capacité de se liquéfier, c'est à dire la fixe. Pour les éviter tous les deux j'agis de la manière suivante.

Je dissous à l'ammoniac une certaine quantité de carmin (qualité supérieure) et je fais s'évaporer l'ammoniac au thermostate à une température de 60°—70° C jusqu'à ce qu'il n'en reste aucune trace. La combinaison du carmin avec l'ammoniac est si peu durable qu'elle se dissocie facilement avec l'évaporation de l'ammoniac, et il n'en reste qu'une petite quantité du carmin ammoniacal non dissocié. On obtient la substance en petits morceaux grands comme des têtes d'épingle, d'une couleur très vive et vernissés d'un côté du carmin ammoniacal non dissocié. Ces petits morceaux de carmin sont constitués par des grains d'un précipité extrêmement fins. On les délaie dans l'eau distillée au moyen d'un pinceau. Le précipité est tellement fin qu'il passe facilement à travers un filtre en papier de Suède. Après une filtration pareille on sépare le précipité du carmin ammoniacal qui se trouve en solution, par une décantation répétée et on obtient une couleur extrêmement fine d'un rouge vif, applicable aux injections les plus délicates et tout à fait transparente sur les coupes épaisses même de 0,075—0,100 mm. Ce procédé quoiqu'il

soit scrupuleux présente deux avantages sur tous les autres. Le précipité est d'une finesse qu'on ne peut acquérir par aucun autre procédé, et la masse préparée avec cette couleur ne perd pas sa solubilité, l'acide acétique étant absent.

Quant au cinnabre et aux autres couleurs (3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 12) j'emploie pour des injections microscopiques les couleurs à l'aquarelle (G. Wagner, Windsor & Newton, Lefranc) qu'on trouve dans le commerce dans des tubes métalliques. Pour des injections macroscopiques j'emploie le cinnabre commercial pulverisé (Cinnabaris praeparata) qualité supérieure, la poudre étant très fine.

L'orange et le jaune de chrome se trouvent dans le commerce en grands morceaux qu'on doit broyer dans un mortier de verre en les arrosant d'une petite quantité d'eau. Le broiement n'est pas difficile et on réussit à en obtenir une poudre assez fine. On agit de même avec les couleurs blanches. Le rouge de Saturne ainsi que l'Outremer (Ultramarin O[d] Joh. Setzer, Wien), surtout ce dernier, sont pulverisés si soigneusement qu'on a rien à y ajouter.

Quant au rouge de Saturne il est à remarquer que la couleur à l'aquarelle a une nuance tout à fait différente à celle de la couleur qu'on achète pulverisée: celle-ci est rosâtre, tandis que celle-là est d'un bel orange clair un peu jaunâtre.

Le vert de Mittis en poudre, tout en étant d'un beau vert vif, ne peut être employé tel qu'il est que pour les injections les plus grossières, car la poudre se compose de cristaux relativement gros. La couleur à l'aquarelle qui est broyée très soigneusement n'a pas de teint si éclatant, car telle est la particularité de cette substance que sa nuance devient plus claire et moins vive à mesure qu'elle est broyée plus soigneusement. Pour obtenir la nuance la plus élégante je mélange une certaine quantité de cinnabre vert, qui n'est rien autre qu'un mélange de jaune de chrome et de Bleu de Berlin, avec du vert de Mittis. Il faut avouer que les couleurs vertes ne sont élégantes que dans une lumière réfléchie et par conséquent peu applicables aux injections microscopiques, de même que les couleurs blanches. Le vert de Mittis n'étant pas du tout transparent, il n'est pas applicable aux injections microscopiques.

Comme couleur bleue foncée j'emploie le Bleu de Berlin soluble (Leichtlösliches Berlinerblau) de M. Grübler, dont la qualité est connue, et pour la noire — l'encre de Chine dissoute préparée par la fabrique G. Wagner (G. Wagners flüssige chinesische Tusche).

Les couleurs à l'aquarelle de même que celles qu'on a broyées dans un mortier doivent être suspendues dans l'eau distillée et filtrées à travers de la ouate, celles-ci deux ou trois fois successivement, pour celles-là, la filtration pouvant au contraire n'être faite qu'une seule fois. La filtration étant achevée, on ajoute la couleur à la gélatine préparée et préalablement rechauffée au bain d'eau. La couleur étant bien mélangée avec la gélatine, on fait filtrer encore une fois cette géla- tine colorée.

Il est presque impossible de déterminer précisément la quantité de la couleur qui est nécessaire pour obtenir une nuance assez intense pour que la masse puisse être appliquée aux injections microscopiques, mais on n'a qu'à veiller à ce qu'une couche bien fine de la masse, étendue sur un papier blanc, ait une nuance aussi intense que celle de la couleur même.

Voilà donc pourquoi il est préférable de conserver la gélatine en solution concentrée, car il faut ajouter des quantités relativement grandes de substances colorantes en introduisant chaque fois des quantitées considérables d'eau, la couleur étant préalablement suspendue dans l'eau. Si la solution était trop peu concentrée, la masse serait trop peu solide.

Quand on prépare une masse au carmin, on n'a pas besoin de la filtrer après l'addition de la couleur, car le carmin a été préalablement filtré à travers un papier de Suède, quant à l'encre de Chine on n'a qu'à filtrer la masse une fois définitive, sans filtrer préalablement la couleur.

La préparation de la masse au Bleu de Berlin est beaucoup plus difficile que celle des masses précédentes, ce qui dépend de la propriété de cette substance de faire coaguler la gélatine. M. Deineka[1] emploie la préparation suivante: on laisse gonfler dans l'eau distillée pendant 24 heures (à une température normale de la chambre, à 14°—16° C) 8 grammes de gélatine sèche. Puis on presse dans les mains cette gélatine pour faire écouler le superflu d'eau et on la liquéfie au bain à 60° C. A cette solution on ajoute goutte à goutte 200 grammes d'une solution saturée de Bleu de Berlin, mais puisque la première goutte provoque la formation d'un caillot on n'ajoute pas la suivante avant que ce caillot ne soit broyé en l'entremêlant constamment, et ainsi de suite. Quand toute la quantité de

[1]) Lab. d'histologie de l'Univ. de St-Pétersbourg.

couleur est ajoutée à la gélatine, on filtre la masse à travers une flanelle jusqu'à ce qu'on n'y puisse trouver au microscope aucune particule solide.

Ce procédé est très délicat et très fatigant. J'emploie un procédé different.

Je commence par ajouter une petite quantité de la solution peu concentrée du Bleu de Berlin à une petite quantité d'une gélatine très diluée. En ajoutant peu à peu d'un côté la couleur concentrée et de l'autre la gélatine nécessaire on obtient par ce procédé la masse sans provoquer la coagulation (voir Hoyer loc. cit.).

Le Bleu de Berlin en réagissant sur la gélatine lui ôte sa ténacité et la rend fragile ce qui rend cette masse peu applicable aux injections macroscopiques, mais pour les microscopiques elle est parfaite, de même que celle au carmin.

Quant aux masses blanches on comprend bien qu'elles n'ont pas grande importance pour les injections microscopiques, mais dans les injections macroscopiques polychlores elles peuvent avoir une application restreinte.

Les plus transparentes et, par conséquent, les plus élégantes pour la microscopie sont les masses au carmin et au Bleu de Berlin; celle à l'outremer n'est presque pas moins transparente que celle-ci. L'encre de Chine qui à la lumière pénétrante a une nuance un peu brunâtre occupe la place suivante; puis le jaune de chrome, l'orange de chrome et le cinnabre. Quant au rouge de Saturne je n'en ai pas fait d'injections microscopiques.

Si la masse est trop peu solide on la verse dans une capsule de Pétri qu'on couvre d'une grande cloche pour la préserver de la poussière. On fait s'évaporer ainsi le superflu d'eau et on obtient une masse concentration désirée.

* * *

La meilleure seringue est sans doute celle de „Record" nouvellement apparue en 1906. Grâce à une exactitude, on pourrait dire mathématique, de ses parties on obtient à son aide des injections magnifiques. Quant aux canules j'emploie les aiguilles de Pravaz de grosseur et de longueur différentes, pointues aussi bien que munies à la fin d'un petit globule métallique. On prépare celui-ci en soudant au bout d'une aiguille un petit morceau de métal à souder et en lui donnant ensuite à l'aide d'une lime la forme désirée; la pointe de l'aiguille en ce cas doit être enlevée.

1. *Injection de l'Anodonte (An. mutabilis).*

Pour pouvoir l'injecter il est tout à fait nécessaire de la tuer préalablement; on y parvient à la manière suivante.

On la plonge dans un bain d'eau tiède de 40^0—50^0 (pas plus chaude!) et on a soin de maintenir la température toujours à peu près au même niveau. Au bont de quelques minutes la coquille commence à s'entr'ouvrir; le pied se prolonge et gonfle. Au bont de 25 minutes ou d'une demi heure on peut commencer à enlever la coquille. Je préfère cette manière de tuer l'animal à celle proposée par M. Flemming (3) qui le tuait en le faisant gêler. L'animal n'est pas encore mort, mais il se trouve en un état de prostration et réagit peu à l'irritation provoquée par les manipulations auxquelles il est soumis. S'il se contracte encore vivement on le plonge de nouveau dans l'eau tiède.

La première opération dont dépend en grande partie la réussite de l'injection du système circulatoire, consiste à enlever la coquille de manière à ne pas endommager le manteau et les autres organes et tissus adhérents à la coquille. Pour y réussir on doit agir de la manière suivante. On prend l'animal dans la main gauche et on écarte avec le pouce de cette main les bords des valves de la coquille autant que possible. Puis on détache attentivement le bord du manteau tout le long de son trajet. Ce n'est pas difficile, car il n'est lié à la coquille que d'une manière très imparfaite, mais on ne doit pas cesser de faire attention pour ne pas l'endommager, car on y ferait ainsi une blessure sanglante. Puis on détache les muscles adducteurs — l'antérieur et le postérieur. On fait cette opération au scalpel pointu et on détache le muscle en appuyant la pointe du scalpel contre la coquille de manière à ne pas blesser le muscle et à éviter des blessures sanglantes. Le scalpel doit passer exactement entre la surface interne de la coquille et la surface adhérente du muscle. Cette opération est bien difficile. Elle réussit beaucoup mieux chez les peignes. Après avoir détaché le muscle adducteur antérieur on détache le postérieur, cette manipulation étant encore plus difficile que la précédente à cause de la position de ce muscle. Cette opération doit être exécutée avec les plus grandes précautions, car c'est auprès du bord supérieur et postérieur de ce muscle que passe une ramification principale de l'aorte postérieure — l'artère palléale, et si on la blesse, l'injection complète ne pourra pas réussir.

Ces deux muscles étant détachés il ne reste qu'à détacher le muscle columellaire (M. columellaris), cette opération étant la plus difficile de toutes à cause de la position de ce muscle au fond de la coquille. Ce muscle étant détaché aussi, on enlève la coquille en coupant le ligament.

Pour éviter les extravasates, M. Langer (7) au lieu de détacher les muscles cassait la coquille de telle sorte que les parties auxquelles s'attachent les muscles restaient intactes.

Il est à remarquer ici que quand on détache la coquille on doit tenir l'animal contre la lumière pour voir si l'opération réussit bien.

Les vaisseaux et les cavités qu'on peut injecter chez l'Anodonte, comme d'ailleurs chez tous les mollusques acéphales, sont les suivants. Avant tout c'est le système circulatoire dont on peut injecter les artères et les vaisseaux et sinus veineux; puis l'intestin, les conduits génitaux et les cavités des organes de Bojanus. On peut obtenir ainsi une injection à cinq couleurs, mais puisque on fait l'injection de l'aorte céphalique et de la caudale séparément, comme on le verra plus bas, on peut même la faire à six couleurs.

Si le détachement de la coquille a bien réussi et si le cœur n'a pas encore cessé de battre, on peut faire une sorte d'injection qu'on peut appeler „Autoïnjection (Selbstinjektion) mécanique". On aspire dans la seringue une quantité de carmin broyé très fin à la solution physiologique et on l'injecte en quantité de 1—2 cent. cubes dans l'oreillette, au moment de la diastole du ventricule, au moyen d'une aiguille de Pravaz no. 20. La piqûre pratiquée par l'aiguille est si fine qu'elle ne provoque pas d'écoulement de sang, et si le cœur continue de battre, la couleur injectée peut être portée par le courant du sang jusque dans des vaisseaux très éloignés. J'ai réussi à obtenir par cette méthode des préparations, où l'injection avait pénétré même dans les artères du manteau, des palpes, etc.

Je crois que cette méthode pourrait avoir une certaine importance comme méthode générale et être parfaitement applicable aux cas où l'on veut s'orienter sur la disposition des vaisseaux principaux.

Quant à l'application du plâtre d'après Flemming (3), je ne peux pas dire qu'elle m'ait rendu grand service, car le manteau et tous les tissus sont couvert de bave qui empêche le plâtre de s'appliquer bien pour boucher complètement toutes les ruptures. Il vaut mieux employer dans ce but la ouate hygroscopique trempée d'une

solution de gélatine à 10—15 pour cent à laquelle on a mélangé un peu de plâtre pulvérisé. Mais ce moyen aussi ne peut pas être un remède parfait une fois que le vaisseau est endommagé.

La première injection se porte aux oreillettes et aux vaisseaux et sinus veineux qui sont les plus proches de celles-ci.

La coquille étant enlevée on fend le péricarde au moyen d'un scalpel pointu pour mettre à nu le cœur qui continue toujours à battre, et puis à l'aide d'une pincette au bout courbé on passe une ligature double sous le coeur entre le ventricule et l'oreillette. Puis on perce le sommet du ventricule et on y introduit une canule au globule no. 10. Puis on l'introduit par le trou atrio-ventriculaire dans l'oreillette et on la fixe avec la ligature. Avant de le faire on doit laisser écouler le sang autout que possible, et la canule avant d'être introduite dans le cœur doit être remplie de solution physiologique de chlorure de soude. Quand la canule est introduite dans l'oreillette et fixée par les deux ligatures, on rechauffe au bain d'eau une quantité suffisante de la masse (j'emploie d'habitude la bleue) concentrée de 4—5 pour cent. On en injecte à une Anodonte longue de 12—15 cent. une quantité de 25—30 cent. cubes. La masse remplit les deux oreilletes, le sinus médian, les veines branchiales et les sinus palléaux. Je n'ai jamais réussi à injecter par ce procédé d'autres veines et d'autres sinus, la paroi de l'oreillette étant trop délicate et trop peu résistante pour qu'on y puisse augmenter la pression de la masse jusqu'à une hauteur nécessaire. L'injection étant achevée, on ferme le robinet de la canule et on enlève la seringue. Il n'est pas bon de plonger la préparation dans l'eau froide pour hâter le figement de la masse, car on rendra ainsi plus difficile l'injection du système de l'aorte céphalique — la principale injection du système circulatoire. Pour éviter cet inconvénient on n'a qu'à injecter à la fin une masse bien plus concentrée que la précédente; l'oreillette sera remplie d'une masse qui figera bien vite. La seconde injection, celle de l'aorte céphalique, peut même être faite indépendamment de la première, la masse bleue n'étant pas encore figée et la canule n'étant pas extraite de l'oreillette. Il est à remarquer qu'on doit tâcher d'achever cette seconde injection le plus vite possible pendant que le pied reste encore gonflé, car ce n'est que dans cette condition que l'injection réussit le mieux, la masse pénétrant dans les sinus et les vaisseaux veineux. On commence par passer une ligature double sous l'aorte céphalique non loin du cœur. Puis on y introduit par la fissure du ventricule

une canule du même diamètre que celle employée pour l'injection précédente remplie de solution physiologique. On la fixe comme d'habitude et on y injecte une masse à 4—5 pour cent, bien réchauffée préalablement. Si l'opération réussit bien, cette injection exige 40—60 cent. cubes de la masse (l'Anodonte étant longue de 12—15 cm), car la masse pénètre dans les sinus qui se trouvent dans le pied et de là dans les veines. On finit l'injection, quand la masse commence à s'écouler par la blessure du cœur. Il me semble qu'on réussit d'injecter complètement au moyen de ce procédé le cercle principal du système circulatoire.

L'injection est éclatante dans la paroi des organes de Bajanus, mais pour réussir il faut qu'elle soit nécessairement achevée pendant que le pied est encore gonflé. Mais il est à remarquer qu'on ne réussit pas à injecter par ce procédé les artères du manteau antérieures. Pour y parvenir on agit de la manière suivante. L'injection touchant à la fin, ce qu'on voit par ce que la masse commence à s'écouler par la blessure du ventricule, on injecte une portion de masse concentrée à 10 pour cent et on la fait figer dans les vaisseaux et sinus du pied en le couvrant d'ouate trempée d'eau froide. Quand la masse se figera dans le pied on réchauffe le commencement de l'artère du manteau en couvrant le corps dans la région du muscle adducteur avec l'ouate trempée d'eau chaude: c'est là que l'artère mentionnée se détache de l'aorte. Quand cette région est bien réchauffée, on pousse une injection ordinaire qui se dirige dans l'artère du manteau et ses ramifications puisqu'elle ne peut plus pénétrer dans le pied.

Cette injection étant définitivement achevée, on fera figer la gélatine à l'eau froide et on extraira les canules. Les ligatures seront de nouveau nouées. Puis on doit faire l'injection de l'aorte caudale; le procédé est plus difficile que les deux précédents.

Les canules étant extraites, on passe une troisième ligature sous le cœur tous près du bout postérieur du ventricule pour fixer la canule qu'on introduira dans l'aorte postérieure. Ce vaisseau doit être ligaturé tout près du cœur, car son trajet unitaire est bien court l'aorte postérieure se bifurquant en deux. La canule est la même que pour les injections précédentes. Il est très rare que cette injection réussisse bien, car il est très difficile de détacher l'adducteur postérieur de la coquille sans endommager l'artère qui passe juxtaposée à la face dorsale et caudale de ce muscle, et une fois qu'elle est blessée, il est presque impossible que l'injection puisse réussir.

Si cette artère étant blessée on ne laisse pas la masse s'écouler par la blessure, on peut obtenir une injection très bonne des vaisseaux correspondant du côté opposé. Cette injection étant achevée on ferme le robinet de la canule et ce n'est qu'alors qu'on peut plonger la préparation dans l'eau froide pour 20—30 minutes pour faire figer la gélatine définitivement.

Par ces trois procédés, dont le principal est le second, on obtient une injection presque complète, car ce ne sont que les vaisseaux et les sinus du manteau qui sont injectés moins bien que les autres parties du système circulatoire. On obtient donc ainsi ce que ne pouvait pas obtenir M. Flemming (3).

Pour les injections du système artériel j'emploie ordinairement la masse au carmin.

La quatrième injection est celle du canal digestif et des conduits hépatiques.

Quand la préparation a été plongée dans l'eau pendant 20—30 minutes, on la retire de l'eau et on délie les deux ligatures pratiquées sur les deux aortes, car elles ligaturent en même temps le rectum. On fend ensuite la partie qui joint caudalement les deux moitiés du manteau et on découvre ainsi la partie terminale du rectum adhérent au muscle adducteur postérieur. On passe ensuite le plus près possible de l'anus une ligature double entre le rectum et le muscle adducteur. La ligature passée, on introduit dans le rectum par l'anus une canule remplie de solution physiologique grosse comme les précédentes, mais au bout d'une forme ellipsoïdale pour en faciliter l'introduction, et on la fixe.

Il est nécessaire d'employer pour l'injection de l'intestin une masse qui devienne très solide après son figement, car en préparant l'intestin d'une Anodonte il est impossible d'en conserver les parois; la préparation de l'intestin sera donc, pour ainsi dire, une préparation à corrosion. Une masse préparée d'après le procédé décrit plus haut n'est pas du tout convenable pour cela, car elle est trop délicate. Le plus simple serait d'injecter l'intestin avec une masse à la cire ou à la résine, mais ces masses sont peu applicables à ce cas, car elles exigent que la préparation soit bien réchauffée, cette condition étant impossible là où on a préalablement fait une injection à la gélatine. Après bien des efforts j'ai trouvé une masse qui répond parfaitement aux exigences.

On prend une certaine quantité de plâtre pulverisé, on le broie encore dans un mortier de verre et on le tamise à travers une

mousseline fine pliée en quatre. Puis on prépare une masse à la gélatine concentrée de 10 pour cent (j'emploie pour cette injection la couleur verte) et on y ajoute du plâtre tamisé en quantité à peu près de 3—4 grammes de celui-ci pour 10 cent. cubes de la masse colorée. Si la nuance devient trop claire après l'addition du plâtre, on y ajoute de la couleur. On repétrit bien la masse avec un bâton de verre pour distribuer le plâtre tout à fait également et on laisse figer la gélatine. Pendant que la gélatine est encore liquide, une partie du plâtre se précipite au fond du vase et ce ne sont que les particules les plus fines qui restent suspendues dans la gélatine, le précipité formant une couche blanche sur le fond. On n'emploie pour l'injection que la couche où le plâtre reste suspendu. Cette masse est la meilleure à employer le lendemain après la préparation, mais elle ne peut pas être conservée longtemps, car elle devient trop grossière, les particules de plâtre se collant les unes aux autres.

Cette masse est assez délicate pour remplir complètement les conduits hépatiques, et en même temps après son figement elle devient très solide. J'emploie cette masse chaque fois qu'il faut faire une injection peu délicate, principalement pour l'injection des intestins et des conduits hépatiques des mollusques. De même je l'emploie quand il faut faire une injection des vaisseaux sanguins d'un grand animal (vertébré) dans le cas où je veux les préparer ensuite. Dans ce cas-là je finis l'opération en injectant les dernières portions avec cette masse-ci. Ce n'est pas la concentration considérable de la gélatine qui est le plus important dans cette masse, mais c'est la présence du plâtre, et si on veut avoir une masse plus liquide on n'a qu'à employer une gélatine moins concentrée.

Pour que l'injection réussisse bien il faut que la masse ne puisse pas s'écouler par l'orifice buccal. Pour y parvenir on le bouche avec un morceau d'ouate hygroscopique trempée de gélatine à 12—15 pour cent, avec ou sans plâtre. La gélatine étant figée l'orifice buccal sera bouché assez bien pour ne pas laisser écouler la masse injectée. Il est utile de tenir l'animal pendant cette injection dans la main gauche et de soutenir l'ouate avec l'index de cette main. On réchauffe la masse au bain d'eau à 70°—80° C et on l'injecte comme d'ordinaire. Si on tient l'animal dans la main pendant l'injection, on ne peut fermer le robinet de la canule, et par conséquent on ne peut pas enlever la seringue, l'injection étant finie. Alors on fait couler sur la préparation un jet

d'eau froide pour faire figer la gélatine ce qu'arrive presque à l'instant même.

Comme critérium pour cesser l'injection on examine le degré de remplissage du rectum qui doit être rempli au point d'être dur quand on le tâte. En cette condition on peut espérer que l'injection des conduits hépatiques soit bien achevée si seulement la masse a été bien réchauffée pour ne pas figer trop tôt. D'ailleurs on peut le voir immédiatement.

Si la main gauche était libre pendant l'injection on n'aurait qu'à fermer le robinet de la canule et à plonger la préparation dans l'eau froide. En tout cas l'injection étant achevée, on laisse l'animal baigner pendant 20—30 minutes dans l'eau froide pour que la gélatine fige complètement.

Cette injection exige 12—15 cent. cubes de masse.

La canule étant extraite et la ligature de nouveau nouée on détache soigneusement les branchies là où elles s'attachent à la paroi externe du corps et on trouve l'orifice génital et l'excréteur. Puis au moyen d'une canule N°s 10 — 12 au petit globule d'une forme prolongée cônique qui puisse facilement pénétrer dans l'orifice génital et le boucher, on injecte à peu près 5 cent. cubes d'une masse bien réchauffée d'une concentration de 6—8 pour cent (j'emploie pour cette injection la couleur jaune). On peut voir pénétrer la masse dans les gonades par un haussement léger de la paroi externe du corps. La quantité superflue de la masse s'écoule par l'orifice, celui-ci n'étant pas assez bien bouché par le globule de la canule. L'injection étant exécutée on fait figer la gélatine sous un jet d'eau froide sans extraire la canule pour ne pas laisser s'écouler la masse. On fera bien d'employer pour cette injection une petite seringue à 5 cent. cubes.

Enfin on fait la dernière injection, celle de l'organe excréteur.

On prépare une canule dont le globule doit être grand à ne pas pouvoir pénétrer dans la cavité de l'organe par son orifice excréteur, et doit être placé à une distance de 1—2 millim. du bout. L'aiguille doit être grosse comme celle qui était employée pour l'injection du système circulatoire. Puis on y injecte une quantité de 10—15 cent. cubes d'une masse très solide (concentration 12—15 pour cent) pour pouvoir accélérer autant que possible son figement après l'injection. On pratique l'injection de telle manière qu'on introduit à l'intérieur de l'organe le bout de la canule et on applique son globule à l'orifice excréteur qui en sera bouché. L'organe étant un peu rempli, les bords de l'orifice s'appliqueront assez solidement

au globule de la canule à cause de la pression provoquée à l'intérieur par la masse injectée. Alois on y injectera la quantité nécessaire pour remplir complètement la cavité de l'organe ce qu'on verra par son gonflement.

Puis on fait couler sur la préparation un jet d'eau froide pour faire figer la gélatine sans extraire la canule. On peut même préparer préalablement un morceau d'ouate trempée à l'alcool absolu et l'injection étant achevée, on enlève très vite la canule et la seringue et on applique cette ouate sur l'orifice excréteur, et ce n'est qu'après que la masse ne s'écoule plus qu'on plonge la préparation dans un liquide fixateur. Mais puisque malgré la plus grande vitesse il s'écoule une certaine quantité de la masse injectée, il en faut injecter un petit superflu, ce qu'on réussit à faire sans peine la paroi du rein étant très élastique.

Quand la masse se sera figée on enlève toutes les ligatures et après avoir donné aux branchies et au manteau une position normale on plonge la préparation dans un liquide fixateur qui doit contenir nécessairement la formaline ou l'acide chromique ou ses dérivés, pour fixer la gélatine. Si on n'a pas l'intention de l'examiner au microscope, pour mieux dire d'en faire l'examen histologique, on peut se contenter d'une solution aqueuse de la formaline à 4 pour cent dans laquelle on laisse la préparation baignée pendant 24 heures. Ce n'est qu'après cette fixation qu'on peut commencer la préparation des vaisseaux et des conduits injectés, car la gélatine y perd complètement son élasticité et devient très solide, et particulièrement la masse au plâtre.

A cause de la couleur sombre très intense de la paroi du rein, la masse qu'on y injecte n'est pas visible. Je prépare toujours cet organe en enlevant complètement sa paroi; on voit alors sa structure interne. Quand à la couleur de la masse j'emploie pour cette injection qui est tout à fait macroscopique une couleur jaune verdâtre que je prépare en mélangeant une masse jaune au jaune de chrome avec une petite quantité de masse au cinnabre vert pour obtenir une nuance verdâtre délicate.

On obtient ainsi une préparation bien démonstrative dont tous les vaisseaux et les cavités sont injectés; on n'a qu'à les préparer.

M. Sabatier (4) conseille d'injecter le système veineux de la moule en l'exécutant par les sinus du pied. Cette méthode étant générale pourrait être appliquée à l'Anodonte aussi, mais moi je ne l'ai pas employée, car j'obtenais toujours de très bonnes in-

jections des sinus et des veines afférentes par la méthode décrite plus haut.

Quant à la conservation des préparations macroscopiques auxquelles on a préparé non seulement les vaisseaux sanguins mais aussi les conduits génitaux, l'intestin et même les conduits hépatiques, elles sont trop délicates pour les pouvoir conserver à l'alcool concentré plus de 40 pour cent, car une deshydration provoquée par ce réactif cause toujours un serrement qui nuit à la préparation. Le meilleur liquide à employer à cet effet est le suivant:

Glycérine . . . . 1 volume
Alcool à 70% . . . . 1 volume.

La préparation étant bien fixée à la formaline, on n'a pas à craindre une macération.

* * *

En retournant à la masse au plâtre on a à remarquer la particularité suivante. Si on la colore avec une quantité moyenne de Bleu de Berlin pour obtenir une nuance bleue-claire, après quelque temps (2—4 mois) la couleur de la masse fixée et conservée au formole devient bleue sombre et la masse devient transparente, car le plâtre lui-même devient transparent à cause d'un processus dont la nature m'est inconnue.

2. *Injection du Peigne (Pecten islandicus).*

Pendant l'été 1906 que j'avais passé à la station biologique à Alexandrovsk (en Laponie sur la côte de Mourman) j'avais beaucoup de ces Peignes dont j'avais fait des injections multicolores.

Avant de commencer l'injection il fallait les faire mourir et ouvrir la coquille. La méthode était la même que dans le cas précédent, c'est à dire que je les plongeais dans l'eau tiède. Une fois que la coquille s'était entr'ouverte je prenais l'animal dans la main gauche et je lui écartais les deux valves de la coquille avec le pouce de cette main. Puis je détachais une coquille au scalpel en agissant avec sa pointe que j'appuyais soigneusement contre la face interne de la coquille. Cette opération ne présente pas de difficulté mais il faut se dépêcher de l'achever vite car l'animal n'étant pas mort il peut raccourcir son muscle adducteur (ce qu'il fait très

rapidement) pendant que celui-ci n'est pas encore complètement détaché de la coquille et alors le muscle se fend longitudinellement cette circonstance ayant cet inconvénient qu'ainsi se déchirent les vaisseaux qui pénètrent ce muscle.

La coquille étant détachée, on trouve le cœur placé sur le côté dorsal de la partie antérieure du corps près du foie et on passe au-dessous de l'aorte céphalique une ligature; puis on y introduit une canule N°s 14—16 munie d'un petit globule à la forme ellipsoidale. Même chez les plus gros individus que je pouvais obtenir, à 8 cm de diamètre, ce vaisseau était bien mince, contrairement à ce qu'on voit chez l'Anodonte, mais grâce à la solidité de ses parois son injection n'est pas trop difficile. La canule étant introduite et bien ligaturée, on fait l'injection comme d'ordinaire.

Cette injection étant achevée, on extrait la canule et on l'introduit dans l'aorte caudale pour en faire une injection ordinaire.

L'aorte de cet animal n'étant pas grosse et ses parois étant relativement bien solides, on réussit facilement à faire l'injection du système artériel sans ligaturer la canule (Einstichinjection), surtout si l'animal n'est pas de grande taille. On emploie dans ce but une aiguille pointue au diamètre un peu plus étroit que celui du vaisseau et on l'introduit dans le vaisseau qui est bien visible à travers la paroi du péricarde. Si, pendant l'injection, la main tenant la seringue ne tremble pas et si la canule ne bouge pas — point important pour chaque injection à l'aiguille pointue (Einstichinjection des auteurs allemands), on parvient à ce que la masse injectée ne s'écoule point du vaisseau, l'ouverture étant parfaitement bouchée par l'aiguille même. L'écoulement ne commence que quand la pression de la masse dépasse une certaine hauteur.

En ce cas on n'a pas besoin d'injecter l'aorte caudale séparément, car elle se remplit de masse une fois que la pression dans les vaisseaux est un peu augmentée, la masse passant entre l'aiguille et la paroi du vaisseau. Si cette injection réussit bien, la masse pénètre dans les sinus du pied et dans les vaisseaux du manteau, ceux-ci n'exigeant aucune manipulation spéciale. Mais je n'ai jamais réussi à obtenir une injection des vaisseaux de la paroi du rein en me servant d'un procédé à l'aiguille pointue. Pour que la masse puisse faire un tour complet de la circulation, la canule doit être nécessairement ligaturée, car autrement la pression de la masse remplissant les vaisseaux ne peut pas atteindre la hauteur nécessaire.

Quant à l'injection des oreillettes et des sinus palleaux qu'on fait la première chez l'Anodonte, il est trop difficile de la faire chez le Peigne en direction centrifugale à cause des relations réciproques des parties du cœur et à cause de leur délicatesse. Les sinus et vaisseaux veineux des Peignes étant mieux limités que ceux de l'Anodonte, je faisais cette injection en direction centripétale en l'exécutant en plusieurs lieu. Les meilleurs résultats me fournissait l'injection exécutée par un des sinus veineux des branchies. En combinant ainsi ces deux injections — la première et la seconde — j'obtenais dans les cas où elle me réuississaient des injections plus parfaites même que celles de l'Anodonte.

Il n'est pas absolument nécessaire d'injecter l'intestin du Peigne, comme nous l'avons vu chez l'Anodonte, car il peut être parfaitement préparé après un traitement à la formaline suivi d'une macération à l'eau. Mais si on veut le faire pour obtenir une injection des conduits hépatiques, on doit boucher préalablement l'orifice buccal qui se trouve sur la face ventrale de l'extrémité antérieure du corps par un tampon d'ouate trempée de gélatine, ou non, tout à fait comme chez l'Anodonte, et on ligature au rectum une canule au globule qu'on introduit par l'anus. En ce cas-ci il est plus facile d'exécuter ces manipulations que chez l'Anodonte, car la partie postérieure du rectum est libre, contrairement à ce qu'on trouve chez celle-là. On n'a pas besoin d'employer pour cette injection une masse au plâtre, car la paroi de l'intestin n'est pas nécessairement enlevée pendant sa préparation.

Les conduits génitaux étant chez ce Peigne comme d'ailleurs chez d'autres [Lacaze-Duthiers (5), Pelseneer (6)] en correspondance directe avec le rein droit, ils ne peuvent pas être injectés séparément des organes excréteurs. Pour y parvenir on agit de la manière suivante.

Puisque les deux reins communiquent avec la cavité péricardiale, on doit boucher l'orifice excréteur du rein opposé à celui par lequel on veut exécuter l'injection, pour que la masse ne puisse pas s'en écouler. On le fait au moyen d'un morceau d'ouate qu'on applique au rein entre le corps et le manteau. On fait encore mieux si on se donne la peine de boucher encore spécialement l'orifice excréteur avec un petit tampon d'ouate. Puis on aspire par la seringue une certaine quantité de masse assez concentrée et bien réchauffée, on y joint une canule au globule et on introduit le bout de la canule dans la cavité du rein. On tient l'animal pendant cette manipulation

dans la main gauche son manteau étant écarté, et la canule étant introduite dans le rein on presse le pouce contre sa partie inférieure pour empêcher la masse de s'écouler. Cette pression est suffisante pour provoquer le même résultat au rein du côté opposé si seulement le morceau d'ouate qu'on y a appliqué est assez grand. On trouve le critérium pour cesser l'injection dans l'observation immédiate, car la paroi du corps est si mince qu'on peut juger à l'œil du degré de remplissage des conduits: l'injection étant bien réussie on voit la masse pénétrer jusque dans les gonades mêmes qu'on voit en petits groupes colorés (chez les femelles).

Puisqu' en tous cas le rein opposé est bouché d'une façon très imparfaite et puisque la masse peut s'écouler très facilement ce qui pourrait causer une injection imparfaite, on doit employer une masse relativement bien concentrée pour en faciliter le figement aussitôt que l'injection est achevée. La concentration la plus convenable serait de 7—8 pour cent. Mais puisque cette masse peut se figer dans les conduits avant de pénétrer dans leurs ramifications initiales, on doit la réchauffer à un degré dépassant beaucoup celui de sa fusion pour éviter ainsi cet inconvénient. De même, il est utile de réchauffer préalablement la seringue par une aspiration répétée d'eau chaude.

Cette injection étant exécutée on fait figer la gélatine en laissant couler dessus un jet d'eau froide ou en plongeant la préparation dans l'eau froide; puis on la traite tout à fait comme celle de l'Anodonte.

3. *Injection de la moule comestible (Mytilus edulis).*

Cette injection est plus difficile que les deux précédentes, car l'animale est de plus petite taille et ses tissus sont plus délicats. Aussi la forme de ce mollusque rend plus difficile le détachement de la coquille.

Pour le faire mourir et le faire entr'ouvrir la coquille on le plonge dans l'eau tiède tout à fait comme dans les cas précédents.

J'ai tâché d'agir en ce cas tout comme dans les autres et j'ai commencé par détacher la coquille droite. Mais j'ai bientôt renoncé à cette méthode, car la forme de la coquille rendant cette opération bien difficile, il m'était presque impossible de la détacher sans endommager gravement le manteau près des muscles adduc-

teurs. Pour éviter cet inconvénient, j'ai agi de la manière suivante. L'animal étant mort, je détachais avec précaution le bord du manteau du bord de la coquille sur la face dorsale de la moitié postérieure du corps de manière à pouvoir voir le péricarde. Une fois que le péricarde était visible je cassais les bords de la coquille pour le mettre à nu. On découvre ainsi le rectum et le péricarde dans lequel on voit apparaître le cœur.

Pour obtenir l'injection la plus complète j'agis ainsi. Puisqu'il est très difficile de trouver les orifices excréteurs des reins et puisqu'ils sont très délicats, il est bien plus facile d'injecter les organes excréteurs par le péricarde. On aspire par la syringue une masse qui n'est pas plus concentrée que 6 pour cent et on l'injecte dans le péricarde à l'aide d'une aiguille N° 20 en quantité de 2—3 cent. cubes dont le superflu s'écoule librement. En perforant la paroi du péricarde on doit être très attentif à ne pas percer l'oreillette, car autrement la masse pénétrerait dans le système circulatoire.

La masse de cette injection étant figée, on fait la seconde, celle du système circulatoire. On l'exécute aussi au moyen d'une aiguille de Pravaz qu'on pique dans le ventricule. La concentration de la masse qui sert à cette injection ne doit pas dépasser 4—5 pour cent. Il faut répéter ici que chaque fois qu'on fait une injection à l'aiguille pointue il est très important de tâcher que les mains — la gauche dans laquelle on tient l'animal et la droite dans laquelle on tient la syringue — ne tremblent pas; cette fois-ci cette règle générale a une application particulière. Au moyen de ce procédé, on réussit à injecter principalement le système artériel et une partie du système veineux. Si on veut injecter celui-ci spécialement on n'a qu'à agir d'après le procédé de M. Sabatier (4) qui l'exécutait en piquant l'aiguille dans les sinus du pied. Il est possible de l'injecter aussi en piquant l'aiguille dans un des vaisseaux veineux qu'on voit après le détachement de la coquille à la surface interne du manteau, mais je ne peux pas dire que cette méthode soit bonne, car les tissus de ce mollusque sont trop délicats.

On peut exécuter cette injection en piquant l'aiguille à travers le péricarde directement dans l'oreillette: en ce cas le rein et le système veineux seront injectés à la même couleur. Il me paraît que cette méthode d'injection du système veineux de la Moule est la meilleure de toutes, quoiqu'une partie de la masse pénètre aussi dans les artères.

Le système circulatoire et l'excréteur étant injectés on fait l'injection de l'intestin qu'on exécute aussi à l'aiguille pointue en employant une masse sans plâtre (voir l'injection du Peigne). Si on bouche préalablement la bouche de l'animal avec un tampon, comme d'ordinaire, on obtient de très bonnes injections de l'intestin et des conduits hépatiques. Il n'est même pas nécessaire de ligaturer le rectum près de l'anus: le rectum faisant un nœud derrière le péricarde on pique l'aiguille dans une branche de ce nœud et on y pousse l'injection qui pénètre jusque dans les ramifications les plus fines des conduits hépatiques.

Toutes ces injections doivent être faites avec des aiguilles 2—3 fois plus longues que celles qu'on emploie d'ordinaire, car la coquille empêche d'approcher la seringue des organes qu'on a à injecter.

Ce n'est qu'après ces quatre injections qu'on peut détacher la coquille, ce qu'on exécute tout à fait comme chez l'Anodonte, avec la seule différence qu'on doit prendre encore plus de précautions que dans ce cas-là. La coquille étant enlevée, il ne reste qu'à injecter les conduits génitaux, qui s'ouvrent dans la cavité palléale dans sa partie postérieure sur une proéminence immédiatement devant l'orifice excréteur. Mais puisqu'il est bien difficile de trouver cet orifice génital il vaut mieux exécuter cette injection par la partie palléale du conduit général qui est parallèle à la ligne dorsale et se trouve dans une couche un peu plus profonde que celle où se trouvent les vaisseaux sangins. D'ailleurs il n'est pas nécessaire de les injecter par le conduit général: on peut le faire parfaitement bien par un des conduits secondaires qui sont même plus faciles à trouver. Pour se faire une idée de leur disposition qui facilite une injection parfaite, on n'a qu'à piquer l'aiguille dans l'épaisseur de la gonade en direction parallèle à sa surface et à y pousser l'injection qui remplira les conduits. Cette méthode donne quelquefois de très bons résultats. Si l'on pousse par un des conduits une injection centripétale, il est rare qu'elle remplisse aussi la partie périférique du conduit général: pour y parvenir on doit y pousser une injection centrifugale. Pour ce procédé on emploie une aiguille très fine (N° 20).

L'injection étant achevée on soumet la préparation à un traitement ordinaire.

4. *Injection de l'Huître (Ostrea edulis).*

L'injection de l'Huître est encore plus difficile que celle de la moule à cause de la petite taille de ce mollusque dont la coquille seule est grande, et de la délicatesse de ses tissus.

On la tue d'après la méthode générale, c'est à dire en la plongeant dans l'eau tiède jusqu'à ce qu'elle ne s'entr'ouvre pas. Alors on commence à détacher la coquille. Puisque le cœur se trouve sur le côté dorsal du corps et le muscle adducteur étant plus rapproché de la coquille creuse, on doit absolument détacher celle-ci, car si on enlève la valve plate, on ne réussira jamais à injecter le système circulatoire: le cœur étant placé au fond du péricarde qui a l'air d'une fente étroite et profonde on ne réussit pas à y piquer bien l'aiguille. Au contraire, si on enlève la valve creuse on a le cœur situé tout près de la superficie, et par conséquent on peut agir avec plus de succès. Cette opération doit être exécutée avec les mêmes précautions que dans les cas précédents.

Pour l'injection du système circulatoire on emploie naturellement une aiguille pointue et bien fine (Nº 20) et on l'exécute sans ligature comme chez la moule. Après une certaine habitude cette injection du système artériel réussit assez bien. Pour la rendre plus parfaite on doit tâcher de l'exécuter au moyen d'une canule (naturellement bien fine), au petit globule à la fin (Nºs 18—20) qu'on introduit dans le ventricule et qu'on y ligature. Dans cette condition, comme dans tous les cas où l'on peut ligaturer la canule, l'injection réussit beaucoup mieux, mais il faut avouer que cette manipulation est bien difficile à cause de la délicatesse des tissus.

L'injection du système veineux ne peut être accomplie qu'en piquant l'aiguille dans la partie antérieure du pied et dans d'autres sinus, principalement ceux des branchies.

L'injection de l'intestin doit être exécutée avec une masse assez délicate au moyen d'une canule Nºs 16—18 munie de globule et ligaturée avec une ligature correspondante à la délicatesse de l'organe.

Quant à l'injection des conduits génitaux et des organes excréteurs elle est bien difficile à cause de la délicatesse de ses organes. Pour obtenir l'injection des reins on doit détacher la coquille avec toutes les précautions possibles pour ne pas endommager la paroi du péricarde, et puis on fait l'injection tout à fait comme dans la moule — cette manipulation réussit assez bien.

Pour injecter les conduits génitaux il faut trouver le cloaque urogénital, et exécuter l'injection par l'orifice excréteur. Cette injection est la plus difficile dans l'Huître.

Le procédé le plus facile pour étudier le rein de ce mollusque ainsi que celui d'autres mollusques dont l'étude est rendue difficile par la petitesse de leurs dimensions est celui de l'injection physiologique au sulfindigotate de soude qui est parfaitement absorbé par les organes de Bojanus, ou celui de l'injection à d'autres substances qui peuvent être utiles dans ce but et dont le nombre est assez restreint [Cuénot (8)].

L'application des injections physiologiques aux études anatomiques n'est presque pas encore ëtë faite, mais elle l'aurait bien mérité, à mon avis, car je crois que c'est un auxiliaire puissant de ces études chaque fois que l'injection mécanique ne peut pas avoir lieu.

Bibliographie.

1) Hyrtl, Lehrbuch der praktischen Zergliederungskunst. 1860.

2) Hoyer, Injektion (Encycl. d. micr. Techn.).

3) Flemming, Bemerkungen zur Injektionstechnik der Wirbellosen (Arch. mikr. Ann. Bd. XV, 1878).

4) Sabatier, Études sur la Moule commune (Mém. Ac. Montpellier 1872—1875).

5) Lacaze-Duthiers, Recherches sur les organes génitaux des Acephales (Lamell. Ann. Sc. N [4] II, 1854).

6) Pelseneer, Les reins, les glandes génitales et leurs conduits chez les Moll. (Z. Anz. Bd. XIX, 1896).

7) Langer, Blutsystem der Teichmuschel.

8) Cuénot, Études physiolog. sur les Gaster. Palmonés (Arch. Biol. t. XII, 1892 et autres travaux sur la physiologie).

9) Bealé, How to work with the microscope.

[Eingegangen am 18. Mai 1909.]

[Aus der Klinik für psychische und nervöse Krankheiten zu Gießen.]

Über ein verbessertes Gehirnmikrotom.

Von

Privatdoz. Dr. K. Berliner
in Gießen.

Hierzu zwei Textabbildungen.

Im folgenden möchte ich ein Großhirnmikrotom beschreiben, das von dem Mechaniker der Klinik, Herrn G. Hempel, auf unsere Anregung hin konstruiert worden ist.

Bekanntlich bedarf man zur Herstellung guter Schnitte durch große Gewebsstücke wie das menschliche Großhirn eines Mikrotoms, das eine völlig gleichförmige Messerführung und zuverlässiges Arbeiten der Mikrometerhebung vereinigt mit möglichster Stabilität aller Teile. Gerade in letzterer Hinsicht ließen früher gebräuchliche Gehirnmikrotome, wie auch das ältere Modell von Becker, viel zu wünschen übrig. In dem von Wernicke herausgegebenen Gehirnatlas, in dem Photographien von damit hergestellten Schnitten zusammengestellt sind, fallen besonders die zahlreichen Riefen und Stufen auf, die, wie auch in der Einleitung des ersten Bandes hervorgehoben, durch vertikale Schwankungen des federnden Messers verursacht wurden.

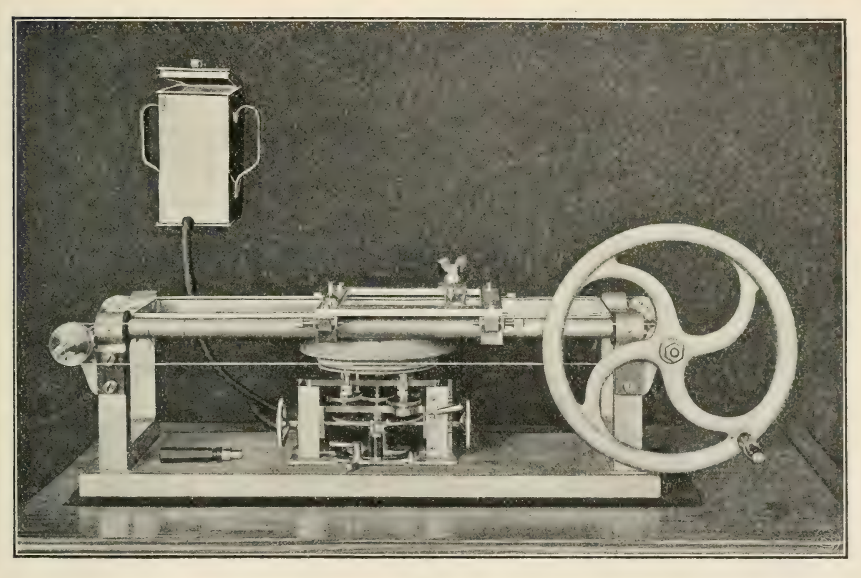
Es war zweifellos ein großer Fortschritt, als von Becker das Prinzip der doppelten Zylinderführung des Messerschlittens mit gleich kräftiger Fixierung des Messers an beiden Enden in die Mikrotomtechnik eingeführt wurde[1].

Wie aus Abbildung 1 hervorgeht, ist dieses Prinzip auch bei unserem Mikrotom zur Ausführung gekommen.

Neu ist an diesem vor allem die Anordnung der Hebung des Objekttisches. Abbildung 2 ist ein Horizontalschnitt durch den Objekt-

[1]) Vogt, O., Das Pantomikrotom des Neurobiologischen Laboratoriums (Journ. f. Psychologie u. Neurologie Bd. VI, H. 3, 4).

hebemechanismus unmittelbar über den beiden Rädern für den groben Trieb. Die Mikrometerbewegung und Schaltvorrichtung ist an den Prismen P und P_1 befestigt und kann durch Drehen an einem der Handräder R zur Grobeinstellung des Objektes in vertikaler Richtung bewegt werden. Zur Fixierung dienen die Schrauben K und K_1. Der Dichtungsteller für die Befestigung der Gummimanschette trägt unten drei stählerne Zylinder (C) mit dem Muttergewinde für die Mikrometerschrauben. Diese Zylinder bewegen sich in den Hohlzylindern (Büchsen) B: ebenso die Zahnräder, die auf den Mikro-



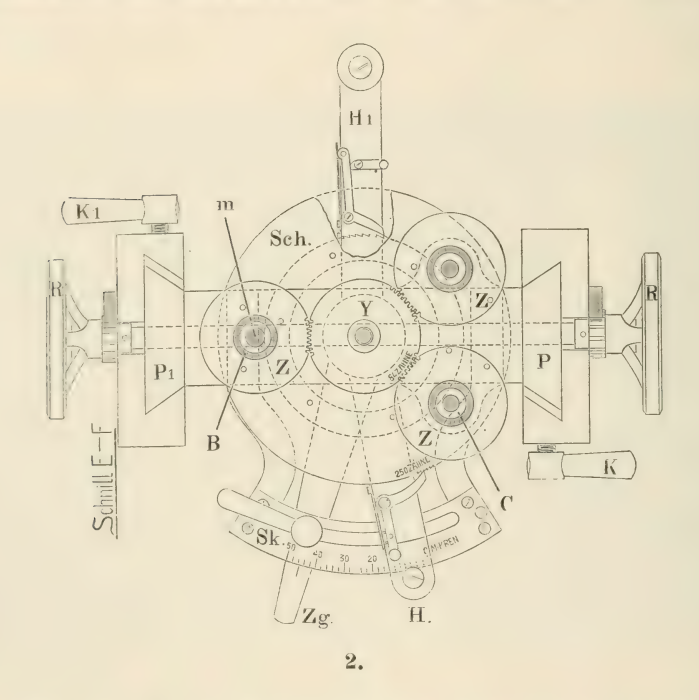
1.

meterschrauben festsitzen. Diese laufen unten auf Stahlpfannen. Das Mikrometergewinde ist durch die Büchsen völlig verdeckt und so gegen jede Beschädigung geschützt. Die drei Zahnräder Z werden von dem zentral befindlichen Zahnrad y angetrieben, das auf einer gemeinschaftlichen Achse mit dem Schaltrad *Sch* in fester Verbindung ist.

Auf dem Dichtungsteller ist der Objektträger leicht abnehmbar mit vier Schrauben von unten befestigt. Die Einstellung der Schnittdicke wird nun bewerkstelligt durch Verschieben des Zeigers *Zg* an der Skala *sk*, so daß sich der Hebel H zwischen 0 und dem eingestellten Skalenteil bewegt.

Die Skaleneinteilung reicht bis 50 Mikren; jeder Teilstrich entspricht einem Zahn des Schaltrades *Sch*. Dieses hat 250 Zähne, die Mikrometerschrauben haben 0·5 mm Steigung, mithin bedeutet jeder Skalenstrich eine Hebung des Objekttellers um 2 Mikren.

Mittels eines außerdem angebrachten Schaltrades mit entgegengesetzt gerichteten Zähnen kann man mit Hilfe des Hebels H_1 den Rücktransport auf das Ausgangsniveau des Objektträgers vornehmen.



2.

Wir haben durch Montierung des Objektträgers auf drei Mikrometerschrauben, die zwangsläufig von der zentralen Scheibe bewegt werden, die größtmögliche Stabilität dieses Mikrotomteiles erreicht. Hierin sehen wir eine wesentliche Verbesserung der bisherigen Konstruktionen.

Auf die automatische Hebung des Objektträgers haben wir verzichtet, da sie bei so großen Schnitten als Mittel zur Zeitersparnis wohl kaum ins Gewicht fällt.

Wie aus der Beschreibung hervorgeht, haben wir ferner auch auf die Verstellung der Schnittebene aus der Horizontalen verzichtet, da wir das Gehirn stets zwecks rascherer Einbettung in Scheiben

von genau parallelen Schnittflächen zu zerlegen pflegen (s. folgenden Artikel).

Die Verbindung des Trägers für den Objekttisch mit der zum Schneiden unter Alkohol dienenden Wanne ist wie bei den anderen neueren Gehirnmikrotomen mittels einer Gummimanschette hergestellt. Das Ein- und Ausfließen des Alkohols geschieht durch eine Öffnung des Dichtungstellers mit Ansatzrohr, an dem der Gummischlauch des Alkoholgefäßes (s. Abb. 1) befestigt wird. Durch Heben und Senken dieses Gefäßes wird die Wanne gefüllt und geleert.

Diese Einrichtung bewährt sich besonders beim Kollodionieren zwecks Herstellung dauerhafter dünnerer Schnitte (10 bis 30 μ). Wir haben bisher bei so dünnen Schnitten die Kollodionage zwecks Vermeidung von Sprungbildung beim Differenzieren oder beim Auflegen der Schnitte stets angewendet.

Unser Verfahren dabei ist folgendes: Nach Hartwerden des auf die Schnittfläche gegossenen Celloïdins, das etwa 2 bis 3 Minuten in Anspruch nimmt, wird die Wanne durch Hochstellen des Alkoholgefäßes (s. Abb. 1) gefüllt und dann der Schnitt gemacht. Das Gefäß wird danach sofort tiefgestellt, so daß der Alkohol während des Auffangens des neuen Schnittes ausfließt. Nun kann man den Celloïdinaufguß sofort daranschließen. Der Ablauf der drei Minuten, während deren das Celloïdin eintrocknen muß, wird durch ein Klingelzeichen von einer durch Herrn Mechaniker Hempel modifizierten Weckuhr (die man beliebig für den Zeitraum von einer Minute bis einer Stunde einstellen kann) angezeigt.

Diese Einrichtung hat den Vorteil, daß der am Mikrotom Arbeitende während der Verdunstung des Ätheralkohols sich anderweitig, etwa mit Färbung oder Differenzierung, Entwässerung von Schnitten, beschäftigen kann, so daß durch die Kollodionage nicht allzuviel Zeit verloren geht, anderseits zu starkes Eintrocknen vermieden wird.

Die eben beschriebene Durchführung des Kollodionageverfahrens erscheint uns zweckmäßiger, als die bei dem neuen Beckerschen Tauchmikrotom, weil die dort immer wieder nötige Lageveränderung des Objekttisches dabei unterbleibt.

Mit diesem Mikrotom, das nur von einer Person bedient zu werden braucht, haben wir große Schnitte, Frontalschnitte durch beide Großhirnhemisphären, durch die Kleinhirnbrückengegend usw. von 10 bis 30 μ hergestellt: Auch auf diesem gelingt, gute Einbettung natürlich vorausgesetzt, jeder Schnitt.

Die Schnitte sind frei von Riefen und auch sonst von völlig einwandfreier Beschaffenheit.

[Eingegangen am 4. August 1909.]

[Aus der Klinik für psychische und nervöse Krankheiten zu Gießen.]

Methode zur Zerlegung des in Müllerscher Flüssigkeit gehärteten Gehirns in dünne Scheiben.

Von

Privatdoz. Dr. K. Berliner
in Gießen.

Hierzu eine Textabbildung.

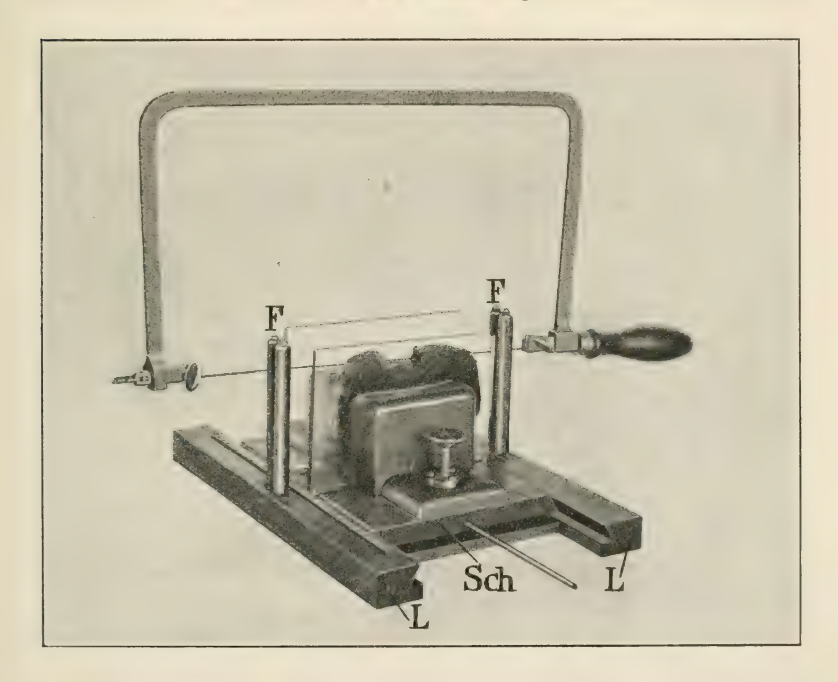
Um frische oder gehärtete Gehirne durch möglichst parallele Schnitte in Scheiben zu zerlegen, ist seit einer Reihe von Jahren in unserer Klinik ein Apparat im Gebrauch, der auf Anregung von Herrn Prof. SOMMER durch Herrn Mechaniker HEMPEL ausgeführt wurde. Dieser Apparat zeigt folgende Konstruktion (s. Fig.): Das zu schneidende Gewebsstück ruht auf einem Schlitten (*Sch*), der zwischen zwei Holzleisten (*L*) mit Zentimetereinteilung verschiebbar ist. Auf den Führungsschienen (*L*) stehen beiderseits je zwei parallele Führungswalzen (*F*), zwischen denen das Messer (wie auf dem Bilde die Laubsäge) geführt wird, so daß es die nötige genau vertikale Stellung erhält und bei jedem Schnitte die gleiche Ebene innegehalten wird. Das zu schneidende Gehirn wird zwischen die beiden auf dem Schlitten befestigten Blätter geklemmt.

Benutzt man bei Zerlegung des in MÜLLERscher Flüssigkeit oder in 5prozentigen Kal. bichrom. gehärteten Gehirns in dünne Scheiben — zwecks Beschleunigung der Einbettung oder zur nachträglichen Behandlung nach MARCHI — das Messer, so kommt es allerdings

häufig vor, daß von der abzuschneidenden dünnen Scheibe Stückchen, besonders Windungsquerschnitte, losbrechen und auch sonst Sprünge entstehen.

Um dies zu vermeiden, kann man sich einer großen Laubsäge bedienen, deren Anwendung zu diesem Zwecke ich vor einigen Jahren im Laboratorium der Breslauer psychiatrischen Klinik (durch O. Förster) kennen lernte.

Zur Herstellung ganz paralleler Schnittflächen kombiniere ich daher das Laubsägeverfahren mit der



Anwendung des oben beschriebenen Apparates, wie dies in der Figur dargestellt ist. Das zu zerlegende Gewebsstück wird dabei zwischen zwei Glasplatten festgehalten.

Wählt man ein genügend dünnes Laubsägeblatt (das abgebildete ist zwecks deutlicherer Demonstration dicker gewählt), so kann man sehr dünne Scheiben des gehärteten Materials herstellen, ohne daß Stückchen abbröckeln. Durch das Zersägen geht bei richtiger Ausführung der Methode nur wenig Gehirngewebe verloren. Die in Kal. bichrom.-Lösung vom „Sägestaub“ gereinigte Schnittfläche ist stets eben und glatt.

Die eben mitgeteilte Methode erweist sich als sehr brauchbar und ist eine willkommene Ergänzung der die Herstellung von Schnittserien vorbereitenden Maßnahmen.

[Eingegangen am 4. August 1909.]

Das Zeichnen auf einer durchsichtigen Zeichenfläche.

Von

Gymn.-Prof. Dr. H. Tafner
in Besztercebánya.

Der Gedanke auf einer durchsichtigen, oder wenigstens durchscheinenden Zeichenfläche zeichnen zu können, ist nicht neu. Es wurde zuerst von HARTING im Jahre 1866 empfohlen[1]. Er empfiehlt nämlich zur Anfertigung mikroskopischer Zeichnungen sein tragbares Sonnenmikroskop, auf dessen Mattscheibe ersichtliches Bild auf geöltem Papier nachgezeichnet wurde. Und dem seit längerer Zeit empfundenen Bedürfnis, auf einer schwarzen Zeichenfläche mit einem harten und spitzen Stift zeichnen zu können, wollte CRETEUR im Jahre 1880 dadurch entgegenkommen, daß er mit Hilfe einer Metallspitze auf einer Gelatineplatte zeichnete. Die so verfertigte Zeichnung mußte dann auf lithographischem Wege vervielfältigt werden[1].

Das Zeichnen auf einer durchsichtigen Zeichenfläche ist heutzutage durch Einführung und Verbreitung der TANDLERschen und EDINGERschen Zeichenapparate wieder aktuell geworden. Die Vorteile des Zeichnens des projektierten Bildes sind mit den modernen intensiven Lichtquellen vollkommen ausnützbar, aber nicht wenige Schwierigkeiten bietet das Zeichnen des projektierten Bildes infolge der Schattenbildung. Obwohl der von der zeichnenden Hand geworfene Schatten von keinem hindernden Einfluß auf das Zeichnen ist, erschwert, oder verhindert unter Umständen der von der Spitze des Bleistiftes geworfene Schatten das genaue Zeichnen. Die schädliche

[1]) APÁTHY, Die Mikrotechnik der tierischen Morphologie, II. Abt.

Wirkung des geworfenen Schattens beeinflußt das genaue Zeichnen um so mehr, je feiner und subtiler die abzuzeichnenden Elemente sind. Diese Schattenbildung zu verhindern, ist nur eine Möglichkeit vorhanden, das projizierte Bild nicht in auffallendem, sondern in durchfallendem Lichte zu betrachten, wie es von Harting im Jahre 1866 und später von Vanghetti im Jahre 1893 empfohlen wurde. Die beiden Autoren zeichneten das mikroskopische Bild, wie ich es schon erwähnt habe, auf die Mattscheibe des mikrophotographischen Apparates, oder auf dem daraufgelegten, geölten Papier. Zum Durchsichtigmachen des Papieres ist anstatt Öl auch Xylol oder Benzol verwendbar; nach der Verflüchtigung des Mediums wird das Papier wieder undurchsichtig. Anstatt dieser Methode empfehle ich die Anwendung des Creteurschen Verfahrens, d. h. das Zeichnen mit einer Nadel auf eine Gelatinefolie, die auf der Mattscheibe aufliegt. Die vollkommen durchsichtige, dünne Gelatinefolie gestattet das genaueste Nachzeichnen des mikroskopischen Bildes ohne parallaktische Abweichung. Anstatt des Bleistiftes bedienen wir uns feinspitziger, dickerer und dünnerer Nadeln; mit Hilfe derselben sind die Linien in die Gelatinefolie hineinzukratzen. Je dünnere Nadeln benützt werden, desto feiner werden die Linien ausfallen. Sehr dicke (0·5 mm und darüber) Linien oder größere Flächen sind von zahlreichen, sehr dünnen Linien zusammenzusetzen (Radierung). Übrigens, wer mit der Feder oder mit dem harten Bleistift zu zeichnen imstande ist, der wird nach einigen Proben auch mit dieser Manier vertraut sein. Die Gelatinefolie ist von der Sorte zu nehmen, welche von dem Kupferstecher gebraucht wird. In jeder Zeichenwaren-Handlung ist sie zu bekommen.

Die in der Gelatinefolie eingekratzten Bilder sind verschiedenartig verwendbar. Wenn die Gelatinefolie mit Graphit- oder Rötelpulver eingerieben wird, erscheinen die Linien dunkel auf durchsichtigem Grund, und das Bild ist wie ein photographisches Negativ zum Kopieren bereit.

Wenn zur Anfertigung der Kopien ein negatives Lichtdruckverfahren (negativer Eisenblauprozeß, Tintenprozeß, Anilindruck oder am einfachsten das Askauverfahren) benützt wird, bekommt man dunkle Linien auf weißem Grunde, im widrigen Falle erscheinen weiße Linien auf dunklem Grunde.

Viel feinere und wertvollere Kopien bekommt man aber mit Hilfe mechanischer Vervielfältigung. Die Gelatineplatte ist mit Rötelpulver einzureiben, die überflüssige Farbe ist mit einem Wattebausch

so weit abzuwischen, daß die Farbe nur in den gekratzten Linien vorhanden bleibe. Die so vorbereitete Gelatineplatte ist mit der Bildseite auf ein, mit Wachspaste eingeriebenes, dickes, glattes, schwach geleimtes Papier zu legen (WHATMAN: Aquarellpapier, JOYSON: Drawing paper usw.) und beide mit Hilfe einer Satiniermaschine oder Kopierpresse unter mäßigem Drucke zusammenzupressen. Durch dieses Verfahren werden die Rötelkörnchen mit der Wachspaste in innere Berührung gebracht, und nach dem Abziehen der Gelatinefolie dadurch zurückgehalten, so, daß das Bild auf das Papier übertragen ist. Um das übertragene Bild zu fixieren, erwärmt man das Papier vorsichtig bis zum Schmelzpunkte der Wachspaste. Die flüssig gewordene Paste wird samt der Farbe vom Papier aufgesaugt und nach dem Erkalten liegen die Farbenkörnchen zwischen den Papierfasern so fest eingebettet, daß sie auch mit dem Radiergummi nicht zu entfernen sind. Wenn das Papier gehörig dick war (dickes Zeichenpapier), so wird es von der aufgesaugten Wachspaste nicht durchsichtig. Von einer Gelatineplatte sind 10 bis 15 gute Abdrücke zu verfertigen, die nachfolgenden werden immer wertloser.

Die Wachspaste wird folgenderweise bereitet: 40 g gelbes Wachs und 70 g Kolophonium werden in einer Schale zusammengeschmolzen und mit so viel rektifiziertem Terpentinöl versetzt, daß eine weiche Paste entstehe. Mit dieser Paste ist das Papier dünn, aber gleichmäßig einzureiben. Um dem Einstrich eine größere Gleichmäßigkeit zu geben, setzen wir auf die eingeriebene Papierfläche eine polierte Metallplatte und pressen die beiden mäßig zusammen. Die überflüssige Paste rinnt neben der Metallplatte heraus.

Die etwa vorkommenden Fehler und deren Ursache:

Fehler	Ursache
1) Papier und Gelatineplatte verschieben sich gegenseitig während des Druckes. Verschwommene Kopien.	Ursache: Zuviel Paste.
2) Papier und Gelatineplatte kleben nach dem Drucken fest zusammen.	Ursache: Zu starkes Drucken oder zu dicke, klebrige Paste.
3) Die Linien verzeichnen sich während dem Erwärmen des Papieres.	Ursache: Zuviel Paste.
4) Das Papier wird nach dem Erwärmen ganz oder teilweise durchsichtig.	Ursache: Zu dünnes Papier.

Die nach dem beschriebenen Verfahren hergestellten Zeichnungen sind mit den einfachsten graphischen Methoden zu vervielfältigen.

Eine dritte Art der Verwendung der auf Gelatinefolie verfertigten Zeichnung ist die, nach der die Zeichnung auf eine Kupferplatte übertragen, und die mit Säuren geätzte Kupferplatte zum Drucke direkt gebraucht wird.

Wer mit der Kunst, Kupferstiche herzustellen, vertraut ist, kann die Kupferplatte selbst behandeln; wer nicht über die gehörige Zeit und Mühe verfügt, kann die Kupferplatte durch einen Kupferstecher herstellen lassen.

Besztercebánya, den 29. Juli 1909.

[Eingegangen am 3. August 1909.]

Einige Neuerungen am Leitzschen Spiegelkondensor.

Von

W. v. Ignatowsky
in Berlin.

Hierzu drei Textfiguren und eine Tafel (Tab. III).

Der Leitzsche Spiegelkondensor besteht bekanntlich (vgl. diese Zeitschr. Bd. XXV, p. 66) aus zwei spiegelnden Flächen, wie dies Figur 1 noch einmal in Erinnerung ruft.

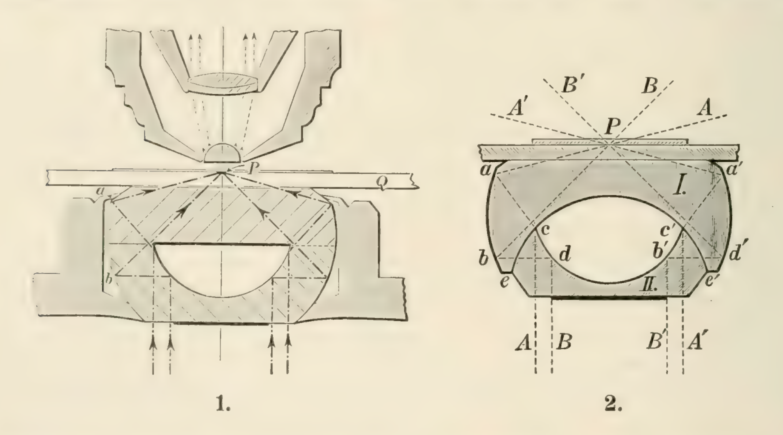
Wegen des Hohlraums ist es nicht möglich, diesen Kondensor aus einem Stück herzustellen, sondern man muß ihn irgendwo teilen und die beiden Stücke aneinander kitten. Früher (Fig. 1) geschah dies durch eine Ebene, die die äußere spiegelnde Fläche zerschnitt.

Bei der technischen Ausführung kann es geschehen, daß beim Zusammenkitten die beiden Teile der äußeren Fläche nicht genau aneinander passen. Hierdurch war es leicht möglich, daß beide Teile nicht eine Fläche bildeten, sondern Stücke zweier verschiedenen Flächen mit etwas verschieden liegenden Mittelpunkten. Infolgedessen verliefen die Strahlen in Wirklichkeit bisweilen anders als sie sollten.

Auf diesen Fehler hat bereits H. Siedentopf hingewiesen (vgl. diese Zeitschr. Bd. XXV, p. 273) und zugleich in Figur 13 in vergrößertem Maßstabe die Abweichung der beiden Teile des Leitzschen Spiegelkondensors von der gemeinsamen Kugelfläche und in Figur 11 den hierbei tatsächlich beobachteten Strahlengang gezeigt.

Dieser Übelstand ist inzwischen beseitigt worden, so daß nunmehr der tatsächliche Strahlengang mit dem theoretischen übereinstimmt.

Es genügt ein Blick auf die Figur 2, um sofort zu ersehen, worin die Verbesserung in der Ausführung des Leitzschen Kondensors besteht. Es wird nämlich jetzt in dem oberen Teil I (Fig. 2) eine Kugelfläche e c e′ c′ eingeschliffen, in welche der Teil II wie eine



1. 2.

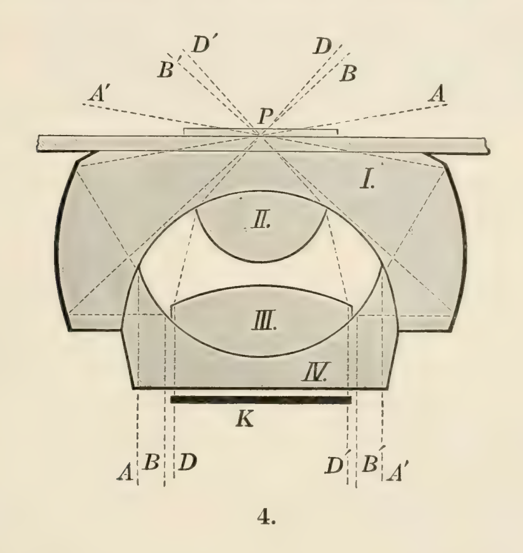
gewöhnliche Linse eingekittet wird. Dadurch ist erzielt worden, daß die äußere spiegelnde Fläche unzerschnitten bleibt und als Ganzes bearbeitet werden kann. Hierdurch wird die Genauigkeit der Ausführung wesentlich erhöht.

Beobachtet man jetzt den Strahlengang im neuen Kondensor mit Hilfe einer Küvette mit fluoreszierender Flüssigkeit, so wie es im Artikel von H. Siedentopf angegeben ist, oder noch besser mit Hilfe eines fluoreszierenden Uranglases mit entsprechender Brechung, so erhält man ein Resultat, welches wohl ziemlich strengen Anforderungen genügt.

Der beobachtete Strahlengang wurde mikrophotographisch aufgenommen (Fig. 3, Taf. III). Ein Vergleich dieser Figur mit Figur 2 zeigt, daß der beobachtete Strahlenverlauf mit dem theoretischen übereinstimmt. Nachdem die Strahlen durch den Punkt P (Fig. 2) gegangen

sind, laufen sie wieder auseinander, mit einer Apertur, welche derjenigen entspricht, mit welcher die Strahlen zum Punkte P hinzielen. Genau dasselbe ist auf Figur 3 ersichtlich. Von einer Teilung des Büschels wie in Figur 11 des Artikels von H. Siedentopf kann nicht mehr die Rede sein. Die Strahlen konvergieren fast genau nach dem Brennpunkte, um von dort wieder regelmäßig zu divergieren [1].

Außer der in Figur 2 dargestellten Form, hat der Leitzsche Spiegelkondensor insofern eine Änderung erfahren, als er nicht nur



4.

als Dunkelfeldkondensor, sondern zugleich als gewöhnlicher Kondensor gebraucht werden kann. Zu dem Zwecke wird er außer der in Figur 2 dargestellten Form auch in einem größeren Maßstabe ausgeführt (Fig. 4). Trotzdem kann er noch bequem in die Schiebhülse des unter dem Tisch befindlichen Kondensorhalters eingeschoben werden.

Durch die größere Ausführung ist in dem Zwischenraum zwischen den Teilen I und IV (Fig. 4) genügend Platz gewonnen, um zwei Linsen II und III dort unterzubringen, resp. aufzukitten. Der Gebrauch dieses Kondensors ist sofort aus der Figur 4 ersichtlich.

---

[1]) Vgl. die Diskussion, anschließend an den Vortrag von H. Siedentopf in der 81. Naturforscherversammlung in Salzburg (Physik. Zeitschr.).

Klappt man die Blende K aus, so ist der Kondensor als gewöhnlicher Kondensor zu gebrauchen. Klappt man die Blende K ein, so kann er als Dunkelfeldkondensor verwandt werden. Auch hier, wie bei dem kleinen Kondensor (Fig. 2) ist die äußere spiegelnde Fläche a b aus einem Stück gebildet und bietet deshalb dieselben Vorteile, wie bei dem kleinen Kondensor.

Zum Schluß möchte ich noch einiges zu dem bemerken, was Herr H. Siedentopf in bezug auf die Anwendung von Immersionssystemen bei der Dunkelfeldbeobachtung erwähnt hat (l. c. p. 280 bis 281). Es zeigt sich nämlich, so weit ich dies beobachtet habe, daß bei Anwendung von Immersionssystemen und zwar von apochromatischen, bedeutend bessere Resultate erzielt werden können, als bei Anwendung von apochromatischen Trockensystemen.

Die Abblendung innerhalb des Systems muß vorsichtig gemacht werden und kann selbstverständlich nur von der Werkstatt ausgeführt werden. Bei sorgfältiger Abblendung, und zwar an zwei, drei Linsen kann jegliche sichtbare Reflexion innerhalb der Linsen vermieden werden. Daß dies der Fall ist, ersieht man daraus, daß der Untergrund bei der Beobachtung vollständig schwarz ist und die Objekte in einer Brillanz erscheinen, die durch ein Trockensystem nie zu erreichen ist. Auch ist es bei sorgfältiger Abblendung nicht nötig, die Apertur des Objektives kleiner als 0,95 zu machen, was beinahe dem theoretischen Wert entspricht, denn die inneren Strahlen $d' P$, $b P$ (Fig. 2) haben eine Apertur von etwa 1,0.

Alle meine Untersuchungen habe ich mit einer solchen Anordnung gemacht und ich möchte behaupten, daß für feinere Untersuchungen z. B. zur Beobachtung von Geißeln, nur eine solche Anordnung zu empfehlen wäre.

[Eingegangen am 9. Oktober 1909.]

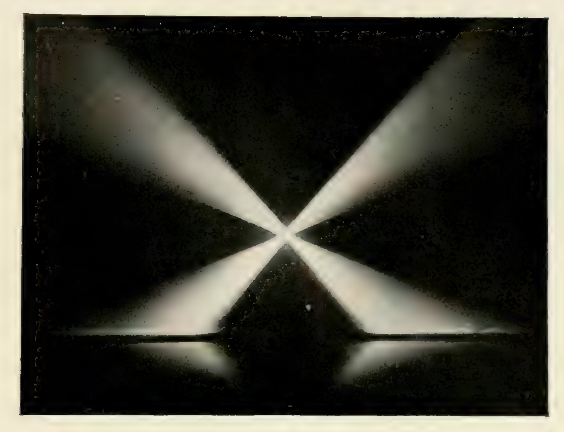


Fig. 3.

Photographische, vergrößerte Aufnahme der aus dem Spiegelkondensor austretenden Strahlen.

Aus obiger Abbildung ersieht man deutlich die äußerst präzise Strahlenvereinigung. Der Abstand vom Kreuzungspunkt bis zum unteren Rand entspricht der Dicke des Objektträgers.

Die Aufnahme ist mit Hülfe eines fluoreszierenden Uranglases, von entsprechender Brechung, angefertigt worden. Das Uranglas wird auf den Spiegelkondensor aufgesetzt und durch einen Tropfen Zedernöl optisch mit ihm verbunden. Der Strahlengang wird von der Seite aufgenommen. Unterhalb des Kondensors befindet sich ein Spalt, dessen Längsrichtung in der Ebene der Abbildung liegt.



Über ultramikroskopische Abbildung.

Von

H. Siedentopf

in Jena.

(Vortrag gehalten auf der 81. Vers. Deutscher Naturforscher und Ärzte zu Salzburg in der physikal. Sektion am 20. Sept. 1909.)

Mit 6 Figuren im Text und 2 Tafeln (Tab. IV u. V).

---

1. Anwendungsbereich des Ultramikroskops nach Siedentopf und Zsigmondy.

Die ultramikroskopische Methode der Seitenbeleuchtung vermittels Abbildung eines Spaltes im Präparat (1) hat sich für die Untersuchung von Kolloiden als wirksam erwiesen. Für Kolloide in fester Form, z. B. gefärbte Gläser oder gefärbte Kristalle, wird man kaum eine leistungsfähigere Methode angeben können. Das hat seinen Grund darin, daß infolge der Abbildung des Spaltes in dicken Objekten von selbst ein beleuchteter optischer Dünnschnitt (2) entsteht, also die Herstellung von Dünnschliffen, wie sie andere Methoden erfordern würden, vermieden wird. Das ist aber von entscheidender Wichtigkeit, da so geringe Schichtdicken von 1 bis 2 μ, wie sie kontrastreiche Dunkelfeldbeleuchtungen erfordern, bei Dünnschliffen eben nicht mehr mit der gleichfalls nötigen kritzchenfreien, auspolierten Oberfläche hergestellt werden können. Handelt es sich aber um kolloidale Lösungen, so hat man den Vorteil, keine besonderen Präparate zwischen Objektträger und Deckglas herstellen zu müssen, da man in einer relativ geräumigen Küvette schnell und bequem verschiedene Flüssigkeiten hintereinander prüfen kann. Wenn also bei der ultramikroskopischen Untersuchung kolloidaler Lösungen die *Bedingung der leichten Auswechselbarkeit der verschiedenen Flüssigkeiten* gestellt wird, so wird man auch bei diesen keine bessere Methode finden können.

Immerhin ist die Forderung der leichten Auswechselbarkeit der Lösungen nicht immer notwendig, so daß man auch auf andere, zum

Teil sogar einfachere Weise eine wirkungsvolle Dunkelfeldbeleuchtung im Mikroskop als Vorbedingung für die Sichtbarmachung von Ultramikronen erzielen kann. Die erforderliche dünne Schicht muß man sich dann entweder in üblicher Weise zwischen gewöhnlichen Objektträgern und Deckgläsern herstellen, oder man kann sich *besonderer Kammern* bedienen, die durch ihre Form die mechanische Einhaltung der notwendigen geringen Schichtdistanz garantieren.

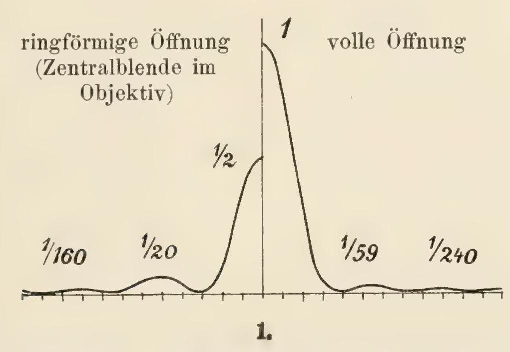
2. Dunkelfeldbeleuchtung vermittels Zentralblende im Objektiv und deren Nachteile.

Von jenen anderen Methoden erreicht eine die Dunkelfeldbeleuchtung dadurch, daß im Mikroskop-Objektiv eine Blende angebracht wird, welche die zentrale Partie des Objektivs abblendet und die so im Verhältnis zur numerischen Apertur der Beleuchtung dimensioniert ist, daß sie das direkte beleuchtende Licht abfängt (3). Es ist klar, daß die Apertur der Beobachtung hierbei erheblich kleiner sein muß, als die des zur Beleuchtung dienenden Systems. Besonders wirksam ist diese Blende an der Frontlinse von Mikroskop-Objektiven, man kann sie aber auch, wenn die zwischen den Linsen entstehenden katadioptrischen Zwischenbilder nicht durch Verschleierung des Sehfeldes stören, hinter dem System einhängen.

Für die Abbildung des Objekts entstehen bei der Methode der Dunkelfeldbeleuchtung durch zentrale Abblendung des Objektivs zwei prinzipielle Nachteile. Erstens wird durch die Diaphragmierung des Objektivs die Helligkeitsverteilung in den Beugungsscheibchen, welche wir als Bilder von Ultramikronen erhalten, sehr merklich geändert. Das normale Beugungsscheibchen ist bekanntlich ein rundes Lichtscheibchen von merklichem Durchmesser, das von abwechselnd hellen und dunklen Ringen umgeben ist, welche in nahezu gleichen Abständen einander folgen. Die Helligkeit der Ringe nimmt mit ihrem Durchmesser rapid ab. In Figur 1 ist auf der rechten Seite die Helligkeit im normalen Beugungsscheibchen als Funktion des Abstandes von der Mitte desselben gezeichnet. Dieses Lichtgebirge gilt für selbstleuchtende Teilchen, für nicht-selbstleuchtende Teilchen gilt ein ähnliches, aber immerhin etwas anderes Gesetz (4).

Legen wir dem zentralen Fleck die Helligkeit Eins bei, so wird die des ersten hellen Ringes nur $^1/_{59}$, die des zweiten nur $^1/_{240}$ dieser Helligkeit (5). Auf der linken Seite von Figur 1 ist das

Lichtgebirge gezeichnet, das die Helligkeitsverteilung im Beugungsscheibchen von der Mitte nach dem Rand zu darstellt, wenn das Objektiv durch eine zentrale Blende diaphragmiert ist (6). Die Werte gelten für den Fall, daß die zentrale Blende gerade die Hälfte der Öffnung verdeckt. Die Helligkeit des zentralen Maximums wird nur etwa die Hälfte der für volle Öffnung geltenden. Dagegen ist die Intensität in den Seitenspektren gestiegen, derart, daß sie im ersten hellen Ringe $^1/_{10}$ und im zweiten $^1/_{80}$ von der Intensität der Mitte hat. So wird also die Helligkeit des ersten Seitenringes im Verhältnis zum zentralen Fleck etwa wie 6 : 1 gesteigert bei Abdeckung der halben Öffnung gegenüber der Intensitätsverteilung im Beugungsscheibchen bei voller Öffnung.



1.

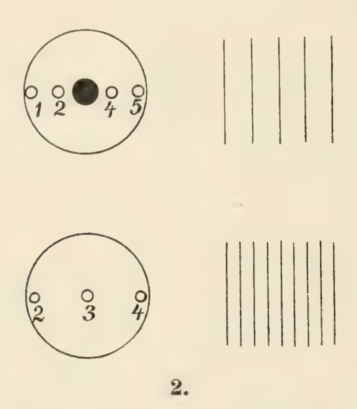
Helligkeitsverteilung im Beugungsscheibchen.

Ein ähnlicher Intensitätsverlauf wie bei punktförmigen Objekten macht sich bei der Abbildung von Kanten, Nadeln, Bakterien und dergl., also linearen Gebilden bemerkbar, wo wir parallel zur Kante verlaufende Beugungsstreifen in der Abbildung erhalten, die bei zentraler Abblendung des Objektivs in störender Weise an Lichtstärke zunehmen, so daß solche Objekte doppelt und dreifach erscheinen.

Ein zweiter Nachteil der zentralen Blende im Objektiv besteht darin, daß durch die Blende eine Änderung des Auflösungsvermögens bewirkt wird. Figur 2 ist bestimmt, diese Verhältnisse zu erläutern.

Im oberen, linken Teil der Figur gibt der Kreis schematisch die Öffnung des Objektivs an und der zentrale Fleck innerhalb des Kreises die Dunkelfeldblende des Objektivs. Wir denken uns nun

ein Objekt, das aus parallelen Streifen von bestimmtem Abstande besteht, wie es schematisch in Figur 2 oben rechts gezeichnet ist. Der Streifenabstand sei so gewählt, daß dieses Gitter bei zentraler Beleuchtung außer dem zentralen Maximum links und rechts davon je zwei Seitenspektren entsendet, die von dem Objektiv aufgenommen werden können. Das zentrale Maximum wird nun durch die Dunkelfeldblende im Objektiv abgehalten, zur Bildwirkung können nur die beiden Paare von Seitenspektren beitragen, die in der hinteren Brennebene des Objektivs erscheinen. Es ist nun ein bekannter Satz aus der Abbeschen Theorie der mikroskopischen Bilderzeugung, daß man immer dann die Gitterdistanz richtig abgebildet bekommt,



2.

Änderung des Auflösungsvermögens durch Zentralblende im Objektiv.

wenn mindestens zwei aufeinanderfolgende Spektren aus dem ganzen Beugungsfächer im Bilde wirksam werden. Dagegen fällt die Gitterdistanz doppelt so fein aus, als wie sie in Wirklichkeit ist, wenn man durch Abblendung an den Büscheln des Beugungsfächers dafür sorgt, daß von den Spektren immer abwechselnd das eine ausgeblendet und das folgende zugelassen wird. Wenn wir nun bei dem zuerst gedachten Gitter im Bilde die richtige Streifendistanz bekommen, so wird das nicht mehr der Fall sein, wenn das Gitter als etwas feiner vorausgesetzt wird. Dann rücken bekanntlich die Beugungsspektren weiter auseinander, so daß jetzt beispielsweise nicht mehr, wie in Figur 2 oben, links und rechts vom zentralen Maximum je ein Paar Beugungsspektren erscheint, sondern das äußere Spektrum jedes Paares wird von einer bestimmten Gitter-

feinheit an außerhalb der Objektivöffnung fallen (Fig. 2 unten). Vom Objektiv werden also bei zentraler Beleuchtung nur links und rechts je ein Seitenspektrum aufgenommen, während die Dunkelfeldblende das zentrale Maximum fortnimmt. Dann kommt aber im Bilde nicht mehr die Interferenz zweier aufeinanderfolgender Spektren zur Wirkung, da eben das mittlere fehlt, und daher muß ein doppelt so feines Gitter erscheinen, als wirklich vorhanden ist.

Wir können leicht in einfacher Formel angeben, bei welcher Streifenfeinheit dies auftreten muß. Bekanntlich wird das Auflösungsvermögen bei zentraler Beleuchtung, die ja in unserm Falle vorliegt, durch den Ausdruck $\delta = \lambda / a$ gegeben, worin δ die Streifendistanz, d. h. den Abstand korrespondierender Punkte des Gitters ist, λ die Wellenlänge und a die numerische Apertur des Objektivs. Solange nun $\delta \geqq 2\lambda / a$ ist, wird durch die zentrale Dunkelfeldblende im Objektiv an der richtigen Abbildung des Gitters nichts geändert. Dagegen müssen alle Gitter, deren Streifenabstand zwischen λ/a und $2\lambda/a$ liegt, doppelt so fein, als sie wirklich sind, abgebildet werden.

Diese beiden Nachteile, das störende Ansteigen der Helligkeit in den seitlichen Beugungsringen resp. Streifen bei punktförmigen resp. linearen Objekten und ferner die Änderung des Auflösungsvermögens, zufolge deren die Grenze eines noch richtig abgebildeten Gitterabstandes auf den doppelten Betrag rückt, wie er für volle Öffnung gilt, müssen die Verwendbarkeit dieser Methode einschränken. Als Vorteil bleibt ihr nur eine gewisse Fähigkeit, auch durch dickere Präparate von 10 bis 100 μ hindurch in manchen Fällen eine Dunkelfeldabbildung zu vermitteln, wo andere Methoden vielleicht versagen (7).

3. Dunkelfeldbeleuchtung durch einseitig schiefes Licht und der dabei entstehende Azimutfehler.

Die Methode der Dunkelfeldbeleuchtung durch Zentralblende im Objektiv ist dadurch charakterisiert, daß die beleuchtenden Strahlen eine geringere Apertur haben, als die Strahlen, welche die Abbildung vermitteln. Außer dieser Methode gibt es aber noch eine andere, die gewissermaßen umgekehrt operiert. Sie benutzt beleuchtende Strahlen von höherer Apertur, während die Abbildung durch Strahlen von geringerer Apertur, als der Beleuchtung zukommt, vermittelt wird.

Auf diese Weise wurde schon die älteste mikroskopische Dunkelfeldbeleuchtung angeordnet. Bekanntlich entstand die erste Dunkelfeldbeleuchtung von Reade 1837 aus dem Bestreben, durch größere Schiefe der Beleuchtung das Auflösungsvermögen zu steigern (8). Denn es wird für ein Objekt, das aus äquidistanten Strichen besteht, bei schiefer Beleuchtung die kleinste noch abgebildete Gitterdistanz $\delta = \lambda / a_0 + a_\varkappa$, worin a_0 die wirksame Apertur des Objektivs und $a_\varkappa$ die der Beleuchtung, also des Kondensors bezeichnet (9). Durch größere Schiefe der Beleuchtung $a_\varkappa$ wird der Wert des Nenners vergrößert und der ganze Bruch, also auch die Grenze δ verkleinert. Dieser Verbesserung des Auflösungsvermögens ist aber eine ganz bestimmte Grenze gesetzt. Sie wirkt nur so lange, als die numerische Apertur der wirksamen Beleuchtung kleiner oder höchstens gleich der Apertur des Objektivs ist. Der Minimalwert der auflösbaren Gitterdistanz wird erreicht bei $\delta = \lambda / 2\, a_0$, also für den Fall, daß $a_\varkappa = a_0$ ist. Dann ist die Beleuchtung so schief, daß sie gerade noch von den Randzonen des Objektivs aufgenommen werden kann.

Bei noch schieferer Beleuchtung entsteht plötzlich das positive Dunkelfeldbild, aber eine Verbesserung des Auflösungsvermögens findet weiterhin nicht mehr statt. Im Gegenteil, es muß sogar sinken, denn die Randzonen des Objektivs nehmen für $a_\varkappa = a_0$ im negativen Hellfeldbilde auf der einen Seite das Hauptmaximum und auf der anderen das erste Seitenspektrum gerade noch auf. Bei noch schieferer Beleuchtung entsteht das positive Dunkelfeldbild, d. h. das Hauptmaximum wird nicht mehr aufgenommen, sondern nur noch das eine Seitenspektrum. Durch ein einziges Seitenspektrum in der hinteren Brennebene des Objektivs kann aber in der Bildebene des Mikroskops keine Struktur mehr abgebildet werden.

Die Schiefe der Dunkelfeldbeleuchtung kann einen Grenzwert nicht überschreiten, der durch den kleinsten Brechungsexponenten gegeben wird, den eine der Substanzen, die zwischen Kondensor und Objektiv liegen, besitzt. Dies nutzte 1856 schon Wenham in einer besonderen Anordnung aus, indem er statt Luft Öl zwischen seinem Prisma für schiefes Licht und dem Objektträger anbrachte und durch diese Immersion unter dem Objektträger mit Strahlen von höherer Apertur als Eins beleuchtete (10). Ist das Präparat zwischen Objektträger und Deckglas kein sogen. Trockenpräparat, und grenzt ferner die Oberseite des Deckglases an Luft, so tritt von selbst für

alle Trockensysteme infolge der Totalreflexion am Deckglase Dunkelfeldbeleuchtung ein, wenn eben mit Strahlen von höherer Apertur als Eins beleuchtet wird. Die WENHAMsche Methode ist übrigens später noch öfter wiederentdeckt worden, so von WOODWARD, HYDE, COTTON und MOUTON, SCARPA, DÖRINCKEL, SEDDIG (8).

Für lineare Objekte hat diese Methode ebenfalls einen prinzipiellen Nachteil. Es besteht nämlich eine sehr merkliche Abhängigkeit der Sichtbarmachung vom Azimut der Beleuchtung; nur wenn dieses ziemlich genau senkrecht zur Kante steht, kann diese in merklichem Maße Licht abbeugen. Bilder von Plankton und Bakterien, die ich vor kurzem veröffentlicht habe (11), sind geeignet, diese Abhängigkeit zu demonstrieren. Sie besteht nicht bloß im durchfallenden Licht, sondern auch im auffallenden. So erscheint z. B. auf einer episkopisch schief beleuchteten polierten Holzplatte die Maserung bei senkrechter Draufsicht viel heller in derjenigen Plattenstellung, wo die Maserung senkrecht zum Azimut der Beleuchtung verläuft.

Die Prismen für Dunkelfeldbeleuchtung vermögen also bei linearen Objekten jeweils nur bestimmte Richtungen sichtbar zu machen. Daher steht dieser Azimutfehler einer weiteren Benutzung solcher Einrichtungen im Wege, zumal andere Konstruktionen ihn leicht vermeiden.

4. Dunkelfeldbeleuchtung durch Zentralblende im Kondensor und der Kardioidkondensor.

Der Azimutfehler der Beleuchtung wird vermieden, wenn man die Seitenbeleuchtung allseitig anordnet, indem man Kondensoren von hoher Apertur (bis etwa 1·4) benutzt, die zentral bis auf die Apertur Eins abgeblendet sind. Das läßt sich am einfachsten bei dem gewöhnlichen ABBEschen Immersionskondensor von 1·4 Apertur bewerkstelligen (12). Besonders geeignet sind ferner der Dunkelfeldkondensor nach STEPHENSON, der Paraboloidkondensor nach WENHAM (8) und der aplanatische Dunkelfeldkondensor nach W. v. IGNATOWSKY (13). Diese drei Dunkelfeldkondensoren unterscheiden sich durch den Grad ihrer Strahlenvereinigung und damit durch ihre Lichtstärke (14). Der STEPHENSON-Kondensor, neuerdings als Spiegelkondensor von REICHERT (15) bekannt, hat die größten Aberrationen und infolge-

dessen die geringste Lichtstärke. Dafür besitzt er eine größere Unabhängigkeit gegenüber der Objektträgerdicke. Freilich macht sich außerhalb der Mitte des beleuchteten Sehfeldes infolge der Aberrationen des Kondensors leicht ein Azimutfehler in der Beleuchtung kenntlich. Die von WENHAM 1856 angegebenen Paraboloid-Kondensoren (8) waren früher nicht sonderlich leistungsfähig, neuerdings werden sie aber infolge eines verbesserten Herstellungsverfahrens in sehr brauchbarer Form geliefert, so daß sie im Grade der Strahlenvereinigung dem STEPHENSON-Kondensor erheblich überlegen sind (16). Der aplanatische Dunkelfeldkondensor nach W. v. IGNATOWSKY sollte theoretisch die beste Strahlenvereinigung aufweisen. In praxi war dies infolge eines Konstruktionsfehlers, auf den ich früher bereits hingewiesen habe (14), nicht der Fall. Seit 1908 werden aber nach meinen Angaben von ZEISS in Jena wesentlich verbesserte Formen eines solchen Kondensors mit größter Sorgfalt ausgeführt, die nicht bloß theoretisch, sondern auch *praktisch das Maximum des an Lichtstärke überhaupt Erreichbaren* darstellen. Die optische Leistung beruht auf folgender Erkenntnis.

Es läßt sich nämlich der Aplanatismus dieses Kondensors aus einer merkwürdigen und bisher unbekannten (17) Eigenschaft der Kardioide, auf welche ich schon vor $1^1/_2$ Jahren aufmerksam wurde, ableiten. Die Kardioide ist als Rollkurve des Kreises in der Mathematik bekannt und führt ihren Namen wegen der Herzform. Auch in der geometrischen Optik spielt sie bereits eine freilich unvorteilhafte Rolle, nämlich als Kaustik des Kreiszylinders. Die ideale Eigenschaft einer aplanatischen Strahlenvereinigung durch Spiegelung an ihrer konkaven Seite besitzt die Kardioide nun nicht allein, das ist durch einmalige Spiegelung von Trivialfällen abgesehen überhaupt unmöglich, sondern nur in Verbindung mit einer zweiten Spiegelung an einem geeignet gelegenen Kreise.

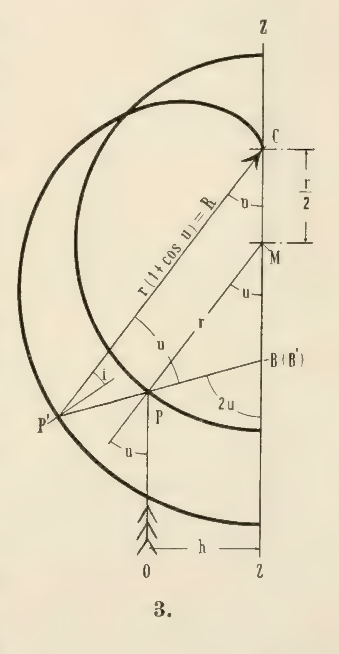
Es läßt sich leicht zeigen (vgl. Fig. 3), daß parallel der Achse ZZ auf den um M mit dem Radius r beschriebenen Kreis unter dem beliebigen Winkel u auffallende Strahlen OP durch Reflexion an ihm dieselbe Aberration erfahren, bzw. rückwärts verlängert die Achse in demselben Punkt B unter gleichem Winkel $2u$ treffen, wie Strahlen CP', die von der Spitze C der Kardioide unter einem Winkel u gegen die Achse ausgehen und an ihrer konkaven Seite bei P' reflektiert werden. *Die Aneinanderfügung beider Spiegelungen gibt daher eine aberrationsfreie Strahlenvereinigung.* Der Beweis beruht darauf, daß der Winkel i, den ein unter dem Winkel u von der Spitze der Kardioide

ausgehender Strahl im Punkte P' mit der Normale der Kardioide macht, stets gleich $u/2$ ist, eine Eigenschaft der Kardioide, die sich aus ihrer Polargleichung $R = r(1 + \cos u)$ leicht ableiten läßt.

Es ist nämlich:

$$\operatorname{tg} i = -dR/R\,du = \sin u / 1 + \cos u = \operatorname{tg} u/2, \text{ also } i = u/2.$$

Nehmen wir an, daß der Strahl CP' nach der Reflexion in P' die Achse in einem Punkte B' treffe. Dann ist aus dem gleichschenkligen Dreieck $B'P'C$ leicht abzulesen $B'C \cdot \cos u = R/2$. Nun ist der Radiusvektor R der Kardioide gleich $r(1 + \cos u)$, ferner soll der Kreis um M so gelegen sein, daß der Abstand seines Mittelpunktes M von C gleich $r/2$ ist. Dann findet man leicht $B'M = r : 2 \cos u$. Das gleichschenklige Dreieck BPM mit B als Spitze liefert nun ebenfalls $BM = r/2 \cos u$. Daraus folgt $BM = B'M$ und $B = B'$. Da nun der Strahl $P'B'$ wie auch PB den Winkel $2u$ mit der Achse bildet, so folgt, daß beide Strahlen der Lage und Richtung nach zusammenfallen; denn zwei gerade Linien in der Ebene sind identisch, wenn sie einen Punkt, nämlich B gemeinsam haben und gegen eine feste Gerade, nämlich ZZ, dieselbe Neigung $(2u)$ haben.



3.

Hieraus ergibt sich also als geometrisch-optisch, und wie wir noch sehen werden, auch für die Ultramikroskopie wichtiges Resultat, daß ein an dem Kreise unter dem beliebigen Einfallswinkel u achsenparallel einfallender Strahl durch Reflexion so abgelenkt wird, daß er die Kardioide unter dem Einfallswinkel $u/2$ trifft, um nach einer zweiten Ablenkung durch Reflexion an der Kardioide die Achse in der Spitze der Kardioide zu schneiden.

Da der Winkel u ganz beliebig angenommen war, werden alle achsenparallel einfallenden Strahlen nach zweimaliger Reflexion am Kreise und der Kardioide in der Spitze der letzteren aberrationsfrei vereinigt.

Hierbei ist ferner für alle Zonen h die Brennweite $f = h / \sin u$ konstant, da (vgl. Fig. 3) $h / \sin u = r$, also gleich dem Kreisradius

wird. Die Strahlenvereinigung ist also für endlich geöffnete Büschel nicht bloß im gewöhnlichen Sinne, wie z. B. bei der Parabel, aberrationsfrei, sondern von höherer Ordnung, nämlich aplanatisch, im Sinne von ABBE (18).

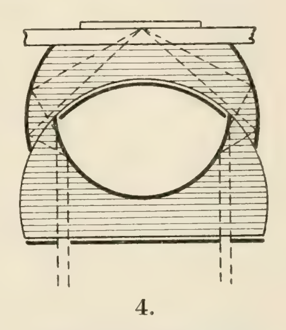
Die soeben nachgewiesene Brennpunktseigenschaft der Kardioide ist also vergleichbar mit der bekannten Sammelwirkung des Paraboloids. Während das letztere aber von Zone zu Zone verschiedene Brennweiten hat, die einfach durch den Radiusvektor bis zum Brennpunkt gemessen werden, ist die Brennweite aller Zonen des Kardioidspiegels konstant. Diese zweite Bedingung muß aber auch erfüllt werden, und ist bekanntlich für alle Mikroskopobjektive von fundamentaler Bedeutung, wenn wir nicht bloß einen einzigen Punkt abbilden wollen, sondern eine wenn auch noch so wenig ausgedehnte Fläche einer reellen Lichtquelle z. B. im Falle des Kondensors.

Für die Zwecke, denen die Dunkelfeldkondensoren dienen sollen, ist es nun nicht nötig, durch strenge Ausführung eines Kardioids von dieser idealen Strahlenvereinigung, die noch die der besten Apochromate übertreffen würde, Gebrauch zu machen. Es genügt vielmehr, die relativ schmale Zone der Kardioide, die für die Sammelwirkung für Dunkelfeldbeleuchtung in Betracht kommt, durch eine Kugelfläche zu ersetzen. Es ist dann leicht, durch nachträgliche kleine Änderung der Zentraldistanz der beiden Kugelflächen je zwei Strahlen von vorgeschriebener Apertur im Bildpunkt streng zu vereinigen. Der verbleibende Zonenbetrag der sphärischen Aberration und ein schwacher Gang in der Sinusbedingung bleiben für unsere Zwecke ohne Bedeutung.

Nun ist es aus geometrischen Gründen nicht möglich, den Kardioidkondensor aus einem Stück herzustellen, wohl aber mit einer Hilfskugelfläche, wodurch zugleich der oben erwähnte Konstruktionsfehler in dem sonst gleichen Kondensor nach IGNATOWSKY vermieden wird, und wirklich eine aplanatische Strahlenvereinigung erreicht wird. Figur 4 stellt schematisch Form und Strahlengang des von ZEISS ausgeführten aplanatischen oder Kardioid-Kondensors für Dunkelfeldbeleuchtung dar. Parallel zur Achse verlaufende Strahlen treten durch eine ringförmige Öffnung in der Zentralblende des Kondensors in passendem Abstande von der Achse und hierauf durch eine achsensenkrechte Planfläche in den durch horizontale Schraffierung markierten eigentlichen Glaskörper. Sie werden zerstreut durch Spiegelung an der konvexen Seite der

ersten Kugelfläche und hiernach wieder gesammelt durch Spiegelung an der konkaven Seite der zweiten Kugelfläche. Vorher haben sie noch ohne weitere Veränderung die kugelförmige Kittschicht durchsetzt, welche die beiden Körper verbindet. Der Schnittpunkt der Strahlen würde, wenn die zweite Fläche eine strenge Kardioide wäre, deren Spitze entsprechen.

Bei der Benutzung des aplanatischen Kardioidkondensors muß man einige Unbequemlichkeiten in der Handhabung in den Kauf nehmen, die beim Paraboloidkondensor nicht in dem Maße vorkommen. Erstens müssen Mikroskop-Objektiv und Kondensor viel genauer gegeneinander zentriert sein und ferner kann die größere Lichtstärke nur ausgenutzt werden, wenn Objektträger von ganz genau vorgeschriebener Dicke benutzt werden, oder was dasselbe ist, der Kondensor muß sehr genau gegen die meist nur 1 bis 2 μ dünne Präparatfläche fokussiert sein. Man wird daher wegen seiner einfacheren Handhabung in den meisten Fällen etwa den Paraboloidkondensor vorziehen, also stets wenn man nur mit Gas- oder elektrischem Glühlicht arbeitet. Erst wenn man Bogen- oder Sonnenlicht anwendet und die alleräußerste Lichtstärke, wie bei feinen Kolloiden, notwendig ist, wird der Kardioidkondensor seine besondere Leistungsfähigkeit entfalten.



4.

Kardioid-Kondensor.

5. Veränderung der Beugungsscheiben durch Diaphragmierung der hinteren Brennebene, durch falsche Benutzung der Mikroskop-Objektive und durch schiefliegende Deckgläser.

Mit Hilfe dieser lichtstarken Dunkelfeldkondensoren, des Paraboloid-Kondensors oder noch besser des Kardioid-Kondensors läßt sich eine weitere Reihe von Eigentümlichkeiten ultramikroskopischer Abbildung bequem studieren. Ich erwähne zuerst die Veränderung der Gestalt und der Helligkeitsverteilung in den Beugungsscheiben, wenn hinter dem Objektiv Blenden eingelegt werden. Für Fernrohrobjektive sind solche Bilder von Scheiner und Hirayama (19), sowie

von Straubel (20) photographisch aufgenommen. Für Mikroskop-Objektive haben wir schon oben bei der Zentralblende im Objektiv einen Sonderfall kennen gelernt. Die Bilder Tafel IV obere Figur geben Belege hierzu. Über dem Objektiv wurden verschiedene Blenden, die zum Abbeschen Diffraktionsapparat gehören, eingelegt, und zwar Blenden mit 2 (*a*), 3 (*b*) und 4 (*c*) Löchern, sowie eine dreieckige Blende (*d*). Die Beugungsscheiben sind mikrophotographisch aufgenommen und nachträglich noch etwa dreimal vergrößert. Die Expositionszeit wurde so gewählt, daß die Veränderung im Kern der Beugungsscheiben deutlich wurde. Um auch die Veränderung der Ringe zu zeigen, mußte viel länger exponiert werden. Da die Bilder nicht so charakteristisch sind, wurde von ihrer Wiedergabe hier abgesehen.

Die Beugungsscheiben erleiden nicht nur durch Diaphragmierung des Objektivs eine Veränderung, sondern streng genommen hängen sie auch ab von der Substanz und Größe der Teilchen, weil die Intensität der nach verschiedenen Richtungen abgebeugten Strahlen davon abhängt. Eine nähere Untersuchung dieser Verhältnisse soll einer späteren Arbeit vorbehalten bleiben.

Praktisch wichtig sind die Veränderungen, die an den Beugungsscheiben auftreten, wenn die Korrektionsbedingungen des Objektivs nicht richtig eingehalten werden, wenn dasselbe also über- oder unterkorrigiert ist. Es sind dann nicht mehr Kugelwellen, welche in ihrem Konvergenzpunkt das Bild des Scheibchens formieren, sondern sogen. nichtsphärische Wellen. Diese nichtsphärischen Wellen sind nun bei Mikroskop-Objektiven charakteristisch verschieden, je nachdem es sich um Über- oder Unterkorrektion handelt. In beiden Fällen können leicht Wendetangenten in ihnen auftreten, nämlich wenn ein Teil der Welle eine reelle und ein anderer eine virtuelle Kaustik ergibt. Setzen wir ein aplanatisches Objektiv voraus, so entsteht bei der praktischen Handhabung des Mikroskops in zwei Fällen z. B. Überkorrektion, die daran kenntlich ist, daß die Kaustik in der Umgebung der Achse einen Kelch darstellt, der in der Richtung der Lichtbewegung geöffnet ist (21). Das ist der Fall, wenn entweder das Deckglas zu dick ist (22) und ein Hundertel Millimeter kann hier schon merkbar werden, oder wenn der Objektpunkt nicht der vordere aplanatische Punkt des Objektivs ist, sondern im Sinne der Lichtbewegung sich dem Objektiv nähert (23), wobei sich das reelle Mikroskopbild mit dem Quadrat der Linearvergrößerung vom Mikroskop-Objektiv entfernt,

also bei „zu langem Tubus“ aufgefangen wird. Dagegen ruft ein zu dünnes Deckglas oder zu kurzer Tubus Unterkorrektion hervor, d. h. die Kaustik bildet in der Nähe der Achse einen gegen das Licht hin offenen Kelch, also von der Form $>$, wenn das Licht als von links kommend vorausgesetzt wird.

Für den Fall der Unterkorrektion hat vor kurzem K. Potzger (24) die Beugungserscheinungen im Ultramikroskop eingehend analysiert und durch Realisierung der Unterkorrektion mittels einer einzigen sammelnd brechenden Kugelfläche gezeigt, daß zwei *Ringsysteme* auftreten müssen, die bei Annäherung des Objektpunktes an die Linse, also bei „zu tiefer Einstellung“ im Sprachgebrauch der Mikroskopiker, sich verschieden bewegen. Ein engeres, inneres System bewegt sich nach dem Zentrum des Scheibchens hin, während ein viel weiteres äußeres System nach außen wandert.

Während bei einer einzigen brechenden Kugelfläche die Erscheinung sich noch leicht rechnerisch verfolgen läßt, ist es schon etwas umständlicher bei einem ganzen Mikroskop-Objektiv mit seinen vielen brechenden Flächen. Experimentell zeigt sich aber auch bei ganzen Mikroskop-Objektiven im Falle der Unterkorrektion das Auftreten dieser Ringe bei zu tiefer Einstellung. Man darf sich aber wohl nicht der These des Herrn K. Potzger anschließen, daß diese Erscheinungen „bei normaler Benutzung“ des Objektivs auftreten. Das würde imputieren, daß alle Mikroskop-Objektive unterkorrigiert wären. Es läßt sich dieser Satz auch dadurch widerlegen, daß im Falle einer Überkorrektion die Erscheinung umgekehrt nur bei zu hoher Einstellung, d. h. Entfernung des Objektpunktes vom Objektiv eintritt. Bei zu tiefer Einstellung kommt es zu keiner weiteren Ringbildung, sondern das Beugungsscheibchen verschwindet in einem allgemeinen *Nebel.* Letzteres tritt auch ein, wenn bei Unterkorrektion zu hoch eingestellt wird. Schematisch ist diese Erscheinung in Tafel IV untere Figur dargestellt.

Diese charakteristische Unsymmetrie vor und nach der schärfsten Einstellung der Beugungsscheiben ist von praktischer Wichtigkeit, da sie ein äußerst bequemes Hilfsmittel darbietet, um sich über den sphärischen Korrektionszustand des Objektivs zu informieren. Man bekommt damit außerdem ein sicheres Kriterium für richtige Deckglasdicke und Tubuslänge, bei denen eben diese Unsymmetrie verschwindet, worauf ich übrigens schon vor Jahresfrist hingewiesen habe (14). —

Veränderungen in den Beugungsscheiben können auch durch asymmetrische Wellen erzeugt werden. Solche treten auf, wenn

z. B. das Deckglas nicht senkrecht zur Mikroskopachse, sondern, wenn auch unter kleinem Winkel, dagegen geneigt ist. Die Beugungsscheibchen sind in diesem Falle nicht mehr kreisrund, sondern können sehr komplizierte Formen annehmen, die aber immer eine Symmetrieebene haben und ganz allgemein einseitige Verlängerung der Scheiben zeigen. Diese Verlängerung liegt immer nach der Seite zu, auf welcher das Deckglas zu hoch liegt, wie das schematisch in der Figur 7 dargestellt ist. Bei gleich schiefer Lage wird die Erscheinung natürlich um so ausgeprägter, je dicker das Deckglas ist. In gleichem Sinne, wie schiefe Lage wirkt ein Keilwinkel in demselben. Dabei liegt natürlich die Verlängerung im Bilde auf der Seite der Keilbasis. Die Erscheinung gibt nach Figur 5 ein einfaches praktisches Kriterium dafür, wie die Lage des Deckglases zu verbessern ist, um wieder zentrisch symmetrische Beugungsscheibchen zu erhalten.

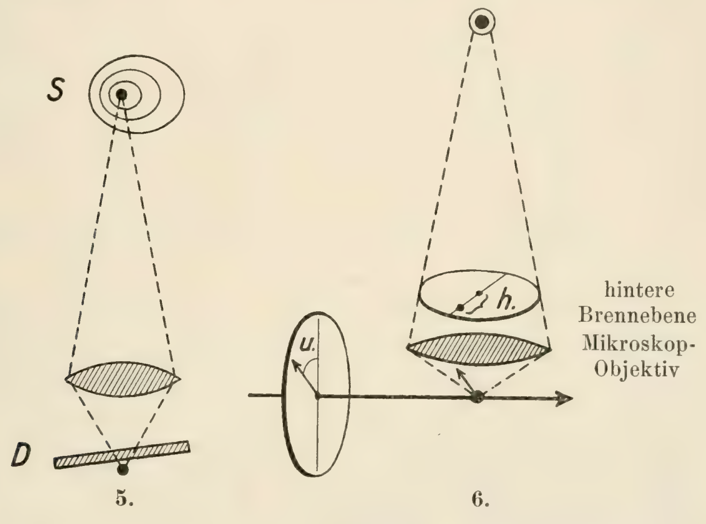
Die Vermeidung solcher nichtsphärischer resp. asymmetrischer Wellen durch richtige Benutzung des Mikroskopobjektivs resp. richtige Lage des Deckglases ist deshalb wichtig, weil man nur so die kleinsten und lichtstärksten Beugungsscheiben erhält.

6. Polarisation des Lichtes durch Beugung an Ultramikronen und die korrespondierende Erscheinung in der hinteren Brennebene der Mikroskop-Objektive.

Von besonderem physikalischen Interesse sind die Anzeichen, die auf Doppelbrechung in den Beugungsscheiben hindeuten, so daß wir bei den Ultramikronen isotrope und anisotrope unterscheiden müssen. Die ältere Rayleighsche Theorie und deren moderne Erweiterung durch Mie (25) setzt bekanntlich nur ersteren Fall voraus unter weiterer Beschränkung auf Kugelform. Mie zeigte, daß bei Ultramikronen, deren Größe 100 $\mu\mu$ und darüber ist, außer der Rayleighschen Welle noch überlagerte Partialwellen zu berücksichtigen sind. Experimentell liegen bei *Goldteilchen*, welche das Goldrubinglas färben, die Verhältnisse einfach. Hier kommt hinsichtlich des Polarisationszustandes bis zu Größen von etwa 100 $\mu\mu$ im wesentlichen nur die Rayleighsche Welle zur Geltung. Dementsprechend zeigt sich bei seitlicher Beleuchtung nach der ultramikroskopischen Methode durch Abbildung eines Spaltes im Objekt und bei Anwendung von linear polarisiertem Licht, daß in der

hinteren Brennebene des Mikroskop-Objektives (Fig. 6) jedesmal in demjenigen Punkte Dunkelheit auftritt, welcher einer zu der Schwingungsrichtung im Polarisator parallelen Richtung im Fokus des Objektivs entspricht, wenn wir die Schwingungsrichtung als senkrecht zur Polarisationsebene stehend, annehmen.

Man benutzt am besten Systeme homogener Immersion zu der Beobachtung, durch die man einen Winkelbereich, der sich im Glase von 0 bis $\pm$ 60° ausdehnt, in der hinteren Brennebene auf einmal übersehen kann.



Beugungsscheibchen *S* bei schief liegendem Deckglas *D*.

Beugung an einem isotropen Ultramikron.

Jedes Goldteilchen verhält sich also wie eine linear polarisierte Lichtquelle, deren Schwingungen parallel zur Schwingungsebene des Polarisators liegen. In der Richtung dieser Schwingungen kann kein Licht emittiert werden — daher der dunkle Fleck — weil das ja sonst auf longitudinale Schwingungen führen würde.

Zur messenden Verfolgung dieser Erscheinung benutzte ich ein Goldrubinglas, das von Hrn. Dr. Schaller im Glaswerk von Schott und Genossen in Jena hergestellt war. Dessen grünes Licht abbeugende Teilchen waren relativ groß und besaßen eine durchschnittliche Größe von etwa 100 $\mu\mu$. Sie erteilten dem Glase bereits einen grünen Schimmer, wenn man es im auffallenden Licht vor dunklem Hintergrund betrachtete. Der Brechungsexponent des Glases

für die grüne Quecksilberlinie war 1·53489. Bezeichnen wir mit h (Fig. 6) den Abstand des dunklen Flecks von der Mitte der hinteren Brennebene in Einheiten der Okularskala und mit u den Winkel, den die senkrecht zur Polarisationsebene gedachte Schwingungsrichtung des Polarisators macht, der in den Strahlengang der Beleuchtung eingeschaltet war, so gibt folgende Tabelle das Resultat der Beobachtungen wieder.

u	$\sin u$	h	$\varkappa h / \sin u$
5·7°	0·1	2·75	27·5
11·5°	0·2	5·52	27·6
17·5°	0·3	8·52	28·3
23·6°	0·4	10·96	27·3
30·0°	0·5	14·27	28·4
36·9°	0·6	16·56	27·4
44·4°	0·7	20·02	28·4
			27·83 im Mittel

$1 = \varkappa \cdot \sqrt{1 + (h / 180)^2}$.

Die vertikale, also parallel zur Achse des Ultramikroskops liegende Schwingungsrichtung entspricht dabei dem Winkel $u = 0$. Es zeigt sich, daß der Quotient $\varkappa h / \sin u$ merklich konstant ist. Dieser konstante Wert gibt aber noch Anlaß zu einer beachtenswerten Schlußfolgerung. Ein Teilstrich der Okularskala entsprach 0·1018 mm, also sind 27·83 Teile gleich 2·83 mm. Dividieren wir diesen Wert noch durch den des Brechungsexponenten des Goldrubinglases, so erhalten wir 1·84. Wir gewinnen also die Gleichung

$$\varkappa h / n \sin u = 1{\cdot}84 \text{ mm},$$

welche unsere Beobachtungen über die Verschiebung des dunklen Flecks in der hinteren Brennebene des Ultramikroskops als Funktion der Drehung des Polarisators zusammenfaßt.

Der linksstehende Ausdruck ist aber die Luft-Brennweite des Immersions-Objektivs; deren direkte Bestimmung lieferte auch 1·84. Die Übereinstimmung dieser Werte bestätigt also den oben ausgesprochenen Satz, daß immer in dem Punkte der hinteren Brennebene Dunkelheit entsteht, welcher einer zu der Schwingungsrichtung im Polarisator parallelen Richtung im Fokus des Objektivs entspricht. Diese Goldteilchen verhalten sich also in der Tat wie isotrope Kügelchen, die wesentlich nur die Rayleighsche Welle ausstrahlen.

Viel verwickelter sind die Erscheinungen bei *Silberteilchen*, die sich aus kolloidalen Lösungen durch Adsorption am Glase absetzen. Hier besteht keine Richtung verschwindender Intensität, infolgedessen entsteht in der hinteren Brennebene auch kein dunkler Punkt. Die Teilchen verhalten sich wie kleine Lichtquellen, in denen nach zwei zueinander senkrechten Richtungen das Licht schwingen kann. Die Mannigfaltigkeit der Erscheinungen ist sehr groß, weil die Teilchen ungeordnet liegen, in allen Farben, wenn auch vorwiegend violett erscheinen und dazu noch pleochroitisch sind.

Über einen Fall von geordnetem Dichroismus bei Natriumteilchen, der auftritt, wenn man natürlich oder künstlich blau gefärbtes Steinsalz parallel einer Hexaederfläche drückt, habe ich früher bereits berichtet (26).

7. Ultramikroskopische Aufnahmen schnell ablaufender Vorgänge.

Die lichtstarken Dunkelfeldkondensoren eignen sich schließlich auch gut zur Momentaufnahme schnell ablaufender mikroskopischer Vorgänge. Ich erwähne als Beispiele Bilder lebender Bakterien und lebender Spermatozoen des Menschen (27). Für den Physiker sind besonders interessant Aufnahmen von der Brownschen Molekularbewegung. Diese sind bereits mehrfach von Seddig (28) u. a. versucht, aber nur bei Suspensionen mit relativ großen, daher nicht mehr so intensiv bewegten Teilchen, die allerdings den Vorteil einer viel größeren Lichtstärke bieten.

Eine bemerkenswerte Bestätigung der kinetischen Theorie bieten Momentaufnahmen einer frischen kolloidalen Silberlösung nach Carey Lea, die ich Hrn. Prof. W. Biltz-Clausthal verdanke. Sie wurden auf einer herunterfallenden Platte erzeugt bei Beleuchtung mit dem Kardioidkondensor und bei horizontalliegender Mikroskopachse. Die Silberteilchen, von beiläufig etwa 20 $\mu\mu$ mittlerer Größe, beschreiben eine in der Fallrichtung der Platte auseinandergezogene Kurve auf der Platte (vgl. Tafel V). Sie sind natürlich in den Momenten über- resp. unterexponiert, wo ihre Bewegungsimpulse in resp. entgegengesetzt der Fallrichtung liegen. Die Zeitmarke wurde in der Weise im Bilde angebracht, daß von der anderen Seite her an den Ort des Bildes der tanzenden Silberteilchen das Bild eines

feinen Spaltes entworfen wurde, der mit Wechselstrombogenlicht von 50 Perioden pro Sekunde beleuchtet war. Die Leiter links auf der Tafel bildet diese Zeitmarke. Die Sprossendistanz entspricht also $^1/_{50}$ Sekunde. Das ganze Sehfeld von oben nach unten wurde in drei Sekunden von jedem Punkte der Platte zurückgelegt. Das Objekt, die Ag.-Teilchen, war natürlich mit Gleichstrombogenlicht beleuchtet. Festliegende Teilchen geben einen geraden vertikalen Strich, vgl. den schwarzen Strich ebenfalls links auf der Tafel. Die lineare Vergrößerung im Mikrophotogramm ist dreihundertfach.

Dieses Abbildungsverfahren der Brownschen Molekularbewegung ermöglicht weiterhin einen sehr bequemen Vergleich mit der von Einstein und von Smoluchowski (29) aufgestellten kinetischen Theorie derselben, den ich aber anderen überlassen muß (30). Jedenfalls zeigen schon für den freien Anblick der Tafel die ganz unregelmäßigen Schwingungen der Teilchen deutlich genug, daß auch in den kleinen Zeitelementen von $^1/_{50}$ Sekunde und darunter der von der kinetischen Theorie geforderte Zufall die Schwingungen regiert.

Anhang.

(Literatur und Anmerkungen.)

1) Siedentopf, H. u. Zsigmondy, R., Über Sichtbarmachung und Größenbestimmung ultramikroskopischer Teilchen, mit besonderer Anwendung auf Goldrubingläser (Ann. Physik [4] Bd. X, 1903, p. 1—39. Vgl. auch Druckschriften der optischen Werkstätte von Carl Zeiss, Jena Signatur M. 229).

2) Siedentopf, H., Über die physikalischen Prinzipien der Sichtbarmachung ultramikroskopischer Teilchen (Berl. klin. Wochenschrift, 1903, No. 32, 7 pp.).

3) Gebhardt, W., Aus optischen und mechanischen Werkstätten I. (Diese Zeitschrift Bd. XXIV, 1907, p. 400—401. Vgl. auch Druckschriften von Carl Zeiss, Sign. M. 228).

4) Czapski, S. in Winkelmanns Handbuch der Physik, 2. Aufl. Bd. VI, 1906, p. 348, sub. b.

5) André, Ch., Étude de la diffraction dans les instruments d'optique; son influence dans les observations astronomiques. Thèse de doctorat, Paris 1876, p. 8.

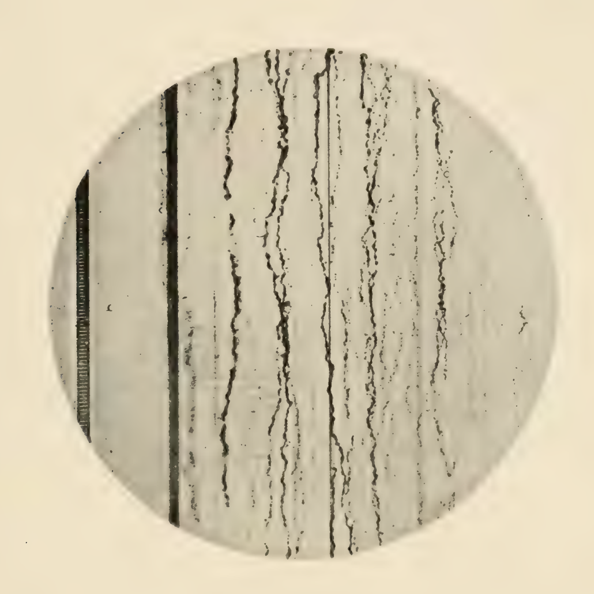
6) André, Ch., ibidem, p. 24.

7) Gaidukov, N., Über die Anwendung des Ultramikropes nach Siedentopf und des Mikrospektralphotometers nach Engelmann in der Textil- und Farben-Industrie (Zeitschr. angew. Chemie Bd. XXI, 1908, p. 393—400).

8) Siedentopf, H., Die Vorgeschichte der Spiegelkondensoren (Diese Zeitschr. Bd. XXIV, 1907, p. 382—395).

Brownsche Molekularbewegung.

Momentaufnahme auf fallender Platte mit aplanatischem Dunkelfeldkondensor von Zeiss.



Die Teilchen einer kolloidalen Lösung von Silber nach Carey Lea von ca. 20 $\mu\mu$ mittlerer Größe beschreiben eine in der Fallrichtung von oben nach unten ausgezogene Kurve. Sie sind in den Momenten über- resp. unterexponiert, wo ihre Bewegungsimpulse in resp. entgegengesetzt der Fallrichtung liegen.

Die Leiter links ist die Zeitmarke (Spalt durch Wechselstrom beleuchtet). Die Sprossendistanz entspricht $^1/_{50}$ Sekunde.

Der schwarze Strich entspricht einem größeren am Deckglase fest absorbierten Teilchen.



Veränderung der Beugungsscheiben durch Diaphragmierung der hinteren Brennebene.



Deckglas

zu dünn — richtige Dicke — zu dick

Einstellung zu hoch

richtig

zu tief

Kriterium für Deckglaskorrektion bei Dunkelfeldbeleuchtung.

H. Siedentopf, Über ultramikroskopische Abbildung.

Verlag von S. Hirzel in Leipzig. Druck von Fischer & Wittig in Leipzig.



9) Diese bekannte Formel für die Gitterbeugung ist zuerst von I. v. Frauenhofer 1823 gefunden. Vgl. I. v. Frauenhofers Gesammelte Schriften, München 1888, p. 132, Formel V.

10) Wenham, F. H., On a method of illuminating opaque objects under the highest powers of the microscope (Trans. Micr. Soc. London, n. ser., vol. IV, 1856, p. 55—60).

11) Siedentopf, H., Die Sichtbarmachung von Kanten im mikroskopischen Bilde (Diese Zeitschr. Bd. XXV, 1908, p. 424—431).

12) Siedentopf, H., Dunkelfeldbeleuchtung und Ultramikroskopie (Diese Zeitschr. Bd. XXIV, 1907, p. 13—20. Vgl. auch Druckschr. von C. Zeiss, Jena, Sign. M. 231).

13) Ignatowsky, W. v., Ein neuer Spiegelkondensor (Diese Zeitschr. Bd. XXV, 1908, p. 64—67 und 438).

14) Siedentopf, H., Über mikroskopische Beobachtungen bei Dunkelfeldbeleuchtung (Diese Zeitschr. Bd. XXV, 1908, p. 273—282).

15) Reichert, C., Neuer Spiegelkondensor zur Sichtbarmachung ultramikroskopischer Teilchen. (Österr. Chem. Ztg. Bd. X [N. F.], 1907, p. 5—7).

16) Siedentopf, H., Paraboloid-Kondensor (Diese Zeitschr. Bd. XXIV, 1907, p. 13—20. Vgl. Druckschr. von C. Zeiss, Jena, Sign. M. 230).

17) Vgl. z. B. Raymond Clare Archibald, The Cardioide and some of its related curves. Inaug.-Diss. Straßburg i. E. 1900.

18) Das nicht bloß für die Dunkelfeldbeleuchtung wichtige Zweispiegelsystem, bestehend aus Kugel und Kardioidfläche gehört übrigens als Spezialfall zu einer Klasse von Flächen, für welche Schwarzschild 1905 die Gleichungen, aber ohne diesen Spezialfall zu bemerken, aufgestellt hat. Aus dessen Formel konnte ich leicht zeigen, daß dieses der einzige Fall unter allen Flächenpaaren ist, wo eine der beiden aplanatischen Spiegelflächen eine Kugel und keine nichtsphärische Fläche ist. K. Schwarzschild, Untersuchungen zur geometrischen Optik II. Abh. Kgl. Ges. Wiss. Göttingen. Math.-physik. Klasse. Neue Folge, Bd. IV, 1905, No. 2, p. 23.

19) Scheiner, J. und Hirayama, S., Photographische Aufnahmen Fraunhoferscher Beugungserscheinungen. Abh. d. kgl. Akad. d. Wiss. Berlin 1894, Anhang, p. 1—9 mit 4 Tafeln.

20) Straubel, R., Zwei allgemeine Sätze über Fraunhofersche Beugungserscheinungen (Ann. der Physik, Bd. LVI, 1895, p. 746—761).

21) Winkelmann, A., Handbuch der Physik, 2. Aufl., Bd. VI, 1906, p. 112.

22) Winkelmann, A., ibidem p. 364.

23) Winkelmann, A., ibidem p. 134.

24) Potzger, K., Die Beugungserscheinungen im Ultramikroskop (Annalen d. Physik [4], Bd. XXX, 1909, p. 185—224). In Figur 3 von dessen Abhandlung ist die Kaustik bei S falsch gezeichnet, nämlich $<$ statt $>$.

25) Mie, G., Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen (Ann. d. Physik [4], Bd. XXV, 1908, p. 377—445).

26) Siedentopf, H., Über künstlichen Dichroismus von blauem Steinsalz [vorl. Mitt.] (Physikal. Zeitschr. Bd. VIII, 1907, p. 850—852 und Verh. Deutsch. Physik. Ges. Bd. IX, 1907, p. 621—623).

27) Scheffer, W., Einiges über das Arbeiten mit dem Paraboloid-Kondensor (Diese Zeitschr. Bd. XXV, 1908, p. 446—450).

28) SEDDIG, M., Messung der Temperaturabhängigkeit der BROWNschen Molekularbewegung. Habil. Schrift, Frankfurt a. M. 1909.

29) EINSTEIN, A., Zur Theorie der BROWNschen Bewegung (Ann. d. Physik [4], Bd. XIX, 1906, p. 371—381).

SMOLUCHOWSKI, M. v., Zur kinetischen Theorie der BROWNschen Molekularbewegung und der Suspensionen (Ann. d. Physik [4], Bd. XXI, 1906, p. 756—780).

30) THE SVEDBERG verwandte eine ähnliche, aber weniger zuverlässige Methode. Statt die Platte zu verschieben, ließ er die Flüssigkeit mit bekannter Geschwindigkeit vor dem Mikroskop-Objektiv vorbeiströmen und beschränkte sich auf subjektive Beobachtung (Nova acta reg. soc. scientiarum Upsaliensis. Ser. IV, vol. II, Upsala 1907, No. 1).

Jena, im September 1909.

[Eingegangen am 9. November 1909.]

[Aus dem Laboratorium der psychiatrischen und Nervenklinik WAGNER VON JAUREGG im Wiener allgemeinen Krankenhause.]

Zur Technik der mikroskopischen Schnitte durch beide Gehirnhemisphären.

Von

Dr. Giulio Bonvicini.

Hierzu zwei Textabbildungen.

Die Erfahrung aller, die sich mit der Lokalisation von Krankheitsprozessen im Gehirne beschäftigen, hat bereits seit langem ergeben, daß ein genaueres Studium der Situation, Ausdehnung und der Sekundärerscheinungen eines Herdes nur an großen Schnitten, die durch beide Hemisphären geführt wurden, möglich sei. Die Herstellung solcher Schnitte, die so dünn sein müssen, um mikroskopisch betrachtet werden zu können, gilt im allgemeinen als nicht leicht: eine besonders ausgebildete Technik und vollkommen verläßliche Instrumente sind Hauptbedingungen. Einen großen Übelstand bilden aber die langwierigen Vorbereitungen und Prozeduren bis

zum Schneiden des Gehirnes, denn zwischen Abschluß der klinischen Beobachtung eines Falles und der mikroskopischen Untersuchung der betreffenden Präparate verfließt gewöhnlich eine sehr lange Zeit, die gewiß nicht zum Vorteile für die anatomische Verwertung mancher klinischen Erscheinungen gereicht.

Seit einigen Jahren mit einem großen Material — wie dies auf der Klinik v. Wagner zur Verfügung steht — beschäftigt, um die anatomischen Verhältnisse bei cerebralen Sprachstörungen zu studieren, und zwar nach der bis jetzt als anerkannt einzig anwendbaren Methode der mikroskopischen Serienschnitte durch das ganze Gehirn, lag es in meinem Interesse, die sich auf ein Jahr und darüber erstreckende Zeit für die Vorbehandlung der Gehirne wesentlich abzukürzen und zu ermöglichen, daß das Cerebrum wenigstens schon nach einigen Monaten post exitum einer mikroskopischen Betrachtung unterzogen werden könne.

In solchen Fällen, wo die Weigertsche Markscheidenfärbungsmethode in Anwendung kommt, was am häufigsten zutrifft, nimmt die Imprägnierung der betreffenden Stücke mit Chromsalzen die längste Zeit in Anspruch. Die bis jetzt meist angewendete Fixierung und Beizung mit Müllerscher Flüssigkeit oder mit Kal. bichromat. erfordert z. B. nach Dejerine, — dem wohl die größten Erfahrungen auf diesem Gebiete zugestanden werden müssen, — für das ganze Gehirn 10 bis 12, für das Rückenmark 6 bis 8 Monate[1], nach anderen wie Pollack[2] für das Gehirn wenigstens 5 bis 6 Monate, nach Spielmayer[3] bis zu einem Jahre bei gewöhnlicher Zimmertemperatur. Daß die anderen, notwendigen Prozeduren: weitere Härtung und Entwässerung in Alkohol, Durchtränkung mit Celloïdin, Schneiden, Färben, nur einen kleinen Bruchteil dieser Zeit erfordern, ist ja allen hinreichend bekannt. Die viel rascher wirkende „braune Chrombeize" Weigerts (Kal. bichrom. 5,0 + Fluorchrom 2,0 + Aq. destill. 100,0) und die für die Neurogliafärbung angegebene essigsaure Kupferoxyd-Fluorchromlösung, welche auch für die Markscheidenfärbung zu gebrauchen ist, sind eigentlich nur bei dünnen Stücken zu verwenden, da die Beize nicht tief eindringt. Viele Versuche mit einer großen

[1]) Dejerine, J., Anatomie des centres nerveux, Tome I, 1895, p. 25.

[2]) Pollack, B., Die Färbetechnik des Nervensystems, 3. Aufl., Berlin (Karger) 1905.

[3]) Gierke, E., Von Kahldens Technik der histologischen Untersuchung pathologisch-anatomischer Präparate, 8. Aufl., 1909 (Anhang: Technik der Untersuchung des Nervensystems von Dr. Spielmayer, p. 16).

Anzahl von Beizen, die ich meist der Technik der Färberei verschiedener Gewebe und Federn entnahm[1], führten mich zu dem Ergebnisse, daß das Chromium sulfuricum (Merk) in Verbindung mit Kalium bichromat. in wässeriger Lösung eine Flüssigkeit liefert, die das Chrom, viel schneller und ausgiebiger an die Markscheiden abgibt und die Präparate rascher härtet, ohne deren Brüchigkeit — wie nach reinen Chromlösungen — wesentlich zu erhöhen.

Die besten Resultate erzielte ich nach vielen Versuchen mit folgender Zusammensetzung:

Kal. bichrom. 4,0
Chrom. sulfuric. (Merk) 2,5
Aq. destill. 100,0. Filtra!

Die Lösung erfolgt in der Wärme. Ein Zusatz von Eisessig bis zu 5 Prozent bewirkt ein rascheres Durchdringen des Chromsalzes. Die Präparate sind im Dunkel zu halten und die Flüssigkeit während der ersten Zeit wöchentlich zu erneuern. Rückenmarkstücke von 0,5 cm Dicke in diese Flüssigkeit eingelegt (mit oder ohne Vorfixierung in 10 Prozent Formollösung) sind in 5 bis 6 Tagen, Stücke aus der Medulla oder der Brücke in 12 bis 14 Tagen, bis zu 2 cm dicke Scheiben durch das ganze Großhirn in zwei Monaten (bei Zimmertemperatur) derart gebeizt und gehärtet, daß sie sich für die Weigert-Palsche, resp. Kulschitzkische Färbung viel geeigneter erwiesen, als die mit anderen Beizen behandelten Stücke. Ein zu langes Verweilen in dieser Chromlösung macht die Präparate spröde und zu hart, und deshalb empfiehlt es sich, die Lösung nach Ablauf der oben angegebenen Zeit mit Aq. destill. oder mit 10 Prozent Formollösung stark zu verdünnen.

Da die Erfahrung lehrt, daß bei einem in toto eingelegten Gehirn nur die oberflächlichen Schichten von der Härtungsflüssigkeit durchdrungen werden, das Innere aber — besonders während der heißen Jahreszeit — leicht Verfärbungen und Veränderungen erleidet und auch Zersetzungen unterliegt, pflege ich in den meisten Fällen die Ventrikel des betreffenden Gehirnes mittels einer sogen. Serum- oder einer größeren Pravazschen Spritze mit 10 Prozent Formallösung (event. auch mit der erwähnten Chromsalzlösung unter Zusatz von 10 Prozent Formal) vorsichtig zu injizieren. Als Injektionsstellen

[1]) Ganswirdt, S., Färberei, 3. Aufl., Leipzig (J. J. Weber) 1904 und Brauner, A., Die Färberei à Ressort, Wien-Pest-Leipzig (A. Hartlebens Verlag) 1887.

wähle ich den nach Abtragung des Stammes offen liegenden Aquaeductus Sylvii, dann das Infundibulum, dessen dünne Wand genau in der Mittellinie mit der Spritzennadel aufgestochen wird. Ist dadurch noch keine Entleerung der Seitenventrikel vom Liquor cerebro-spinalis und auch keine Füllung mit Formol- (resp. Chromsalz-)lösung zu bewirken, so wird diese direkt — entweder mittels Balkenstich, oder durch vorsichtiges Durchstoßen der Spritzennadel durch die vom Grunde der Fissura occipito-temporalis ant. gebildete dünne mediale, untere Wand des Unterhornes — in die beiden Seitenventrikel injiziert [1].

Das so behandelte Gehirn wird in einem großen mit 10 Prozent Formollösung gefüllten nach dem Vorgange von Retzius [2] durch einen Faden an der Art. basilaris suspendiert, oder auch in einen Tülllappen gehüllt und an dessen Enden derart aufgehängt, daß die Flüssigkeit von allen Seiten ungehindert eindringen und keine Deformierung der Windungen durch Abplattung oder dgl. entstehen kann. Um dieses Eindringen noch zu beschleunigen, zieht man am dritten Tage die Pia ab, vorausgesetzt daß bei der nachfolgenden mikroskopischen Untersuchung kein besonderes Gewicht auf den Zustand der Hirnhäute gelegt wird. Jedenfalls aber müssen die tieferen Furchen und die Fissuren eröffnet werden. Am 6. bis 8. Tage weist das Gehirn bereits eine solche Konsistenz auf, daß es in planparallele Scheiben geschnitten werden kann, ohne spätere Schrumpfungen im Inneren oder an der Schnittfläche zu zeigen.

Diese Art der Zerteilung ist von großem Vorteil, denn einerseits erleichtert sie die Orientierung über die anatomischen Verhältnisse und über die Art und Ausdehnung der Läsionen, anderseits bewirkt sie eine raschere und gleichmäßigere Imbibition der Stücke mit der Fixierungsflüssigkeit, resp. Beize. Die Individualität des Falles ist für die Richtung und Dicke der Schnitte maßgebend, daher muß sich auch die makroskopische Sektion der nachfolgenden mikroskopischen Untersuchung anpassen [3]. Um die Anfertigung von Dickschnitten durch

---

[1]) Wenn die Gefäße durchgängig sind, ist es auch ratsam, das Gehirn nach dem Vorgange von Byrom Bramwell auch von den Carotiden und Vertebralen aus zu injizieren (Bramwell, S. B., On a ready method of preparing large sections of the brain; Brain, vol. X, 1887/1888, p. 475).

[2]) Ref. Neurol. Zentralbl. Bd. XV, 16, p. 763.

[3]) Siemerling, E., Über Technik und Härtung großer Hirnschnitte (Berliner klin. Wochenschr. 1899, No. 32,) und Die zweckmäßigste Art der Hirnsektion (Arch. f. Psych. Bd. XXV, p. 530 u. ff.).

das ganze Gehirn zu ermöglichen, ohne relativ kostspielige Apparate, wie z. B. den von O. VOGT[1] in Anspruch nehmen zu müssen, konstruierte ich ein Makrotom[2], welches gewisse Ähnlichkeiten mit dem sogen. MARCHI-Mikrotom von STARLINGER[3] und mit dem ihm verwandten Apparate von BYROM BRAMWELL[4] aufweist, sich aber von demjenigen EDINGERS[5] dadurch unterscheidet, daß es präziser arbeitet und die Schnitte in beliebiger Richtung und Dicke nach einer Millimetereinteilung durchgeführt werden können.

Der Apparat besteht aus zwei horizontal übereinander gestellten Holzplatten (H und H^1), deren obere durch die Triebschraube T über die untere (feste) in Längsrichtung verschiebbar ist. Mit der unteren stabilen ist die um ihre eigene horizontale Achse bewegliche Glasplatte G mittels eines Scharniergelenkes derart verbunden, daß sie senkrecht (Lage G^1) aufgestellt und in dieser Lage durch die Schraube h fixiert werden kann. Auf das bewegliche Brett H ist ein senkrecht gestellter Stahlbügel (B) festgeschraubt, dessen Öffnung so groß ist, daß ein menschliches Gehirn sowohl seiner Breite als auch seiner Länge nach bequem durchschiebbar ist. Der Abstand der aufgestellten Glasplatte (G^1) von der vorderen Fläche des Bügels entspricht der Dicke des anzulegenden Schnittes, welche von der seitlich an der Holzplatte angebrachten Millimetereinteilung abzulesen ist. Der Bügel B, und zwar die der Glasplatte zugekehrte Fläche, dient zur Führung eines stark gespannten Bogenmessers, welches ähnlich dem Messer des STARLINGER-Mikrotoms gebaut und mit einer papierdünnen, kaum $^3/_4$ cm breiten Klinge versehen ist, vor den sogen. Schinkenmessern aber den Vorzug hat, daß auch relativ harte Gehirne, ohne die Klinge zu verbiegen und die Hirnscheiben abzubrechen, damit durchschnitten werden können. Zum Schutze der Schneide ist die ins Holz geritzte Rinne K mit Kork ausgelegt.

Das Gehirn, präpariert wie oben angegeben, wird auf die Holz-

---

[1]) Journal für Psychologie und Neurologie, Bd. II, 1903.

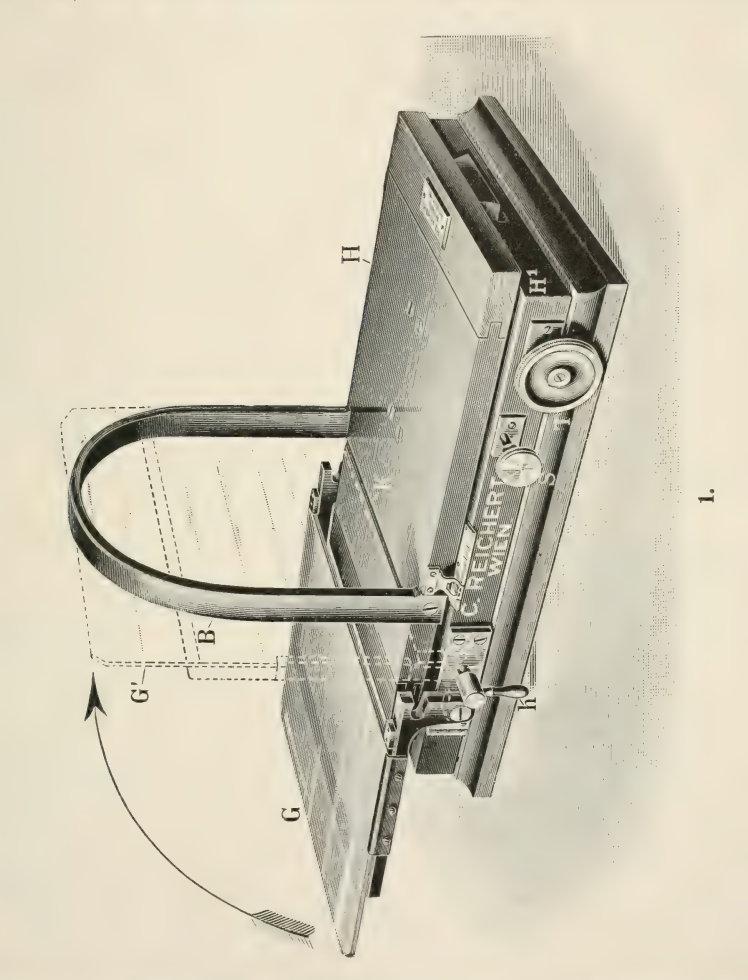
[2]) Ausgeführt von der Firma C. REICHERT, Wien VIII.

[3]) STARLINGER, Zur MARCHI-Behandlung. Ein Apparat zur Zerlegung in dünne, vollkommen planparallele Scheiben (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XVI, p. 179).

[4]) BRAMWELL, B., Brain, vol. X, p. 439, vgl. auch JACOBSOHN, Gehirn- und Rückenmarkssektion im Handb. d. path. Anatomie d. Nervensystems von FLATAU-JACOBSOHN-MINOR, Berlin 1904, p. 16.

[5]) EDINGER, L., Ein Hirnmakrotom (Frankfurter Zeitschr. f. Pathol. Bd. I, 1907, p. 371).

platte gelegt und für Frontalschnitte mit den Stirnpolen, für Horizontalschnitte mit der Basis an die senkrecht aufgestellte Glasplatte angepreßt; hierauf stellt man B mittels der Schraube T so weit von G^1 ein, als es die Dicke der zu schneidenden Scheibe erfordert



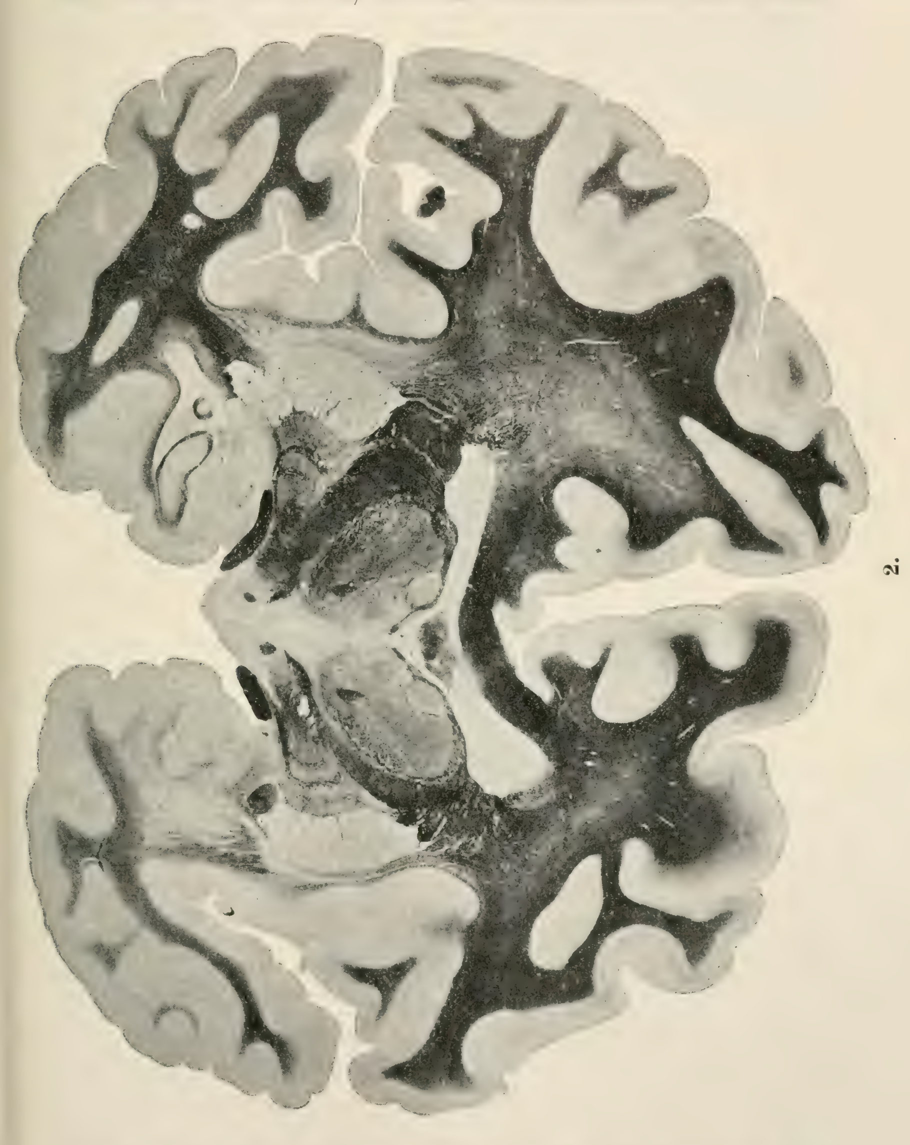
und fixiert dann den Bügel mit der Schraube S. Die Klinge muß vor jedesmaligem Schneiden mit Wasser befeuchtet werden. Der Schnitt wird in der Weise durchgeführt, daß die Klinge des Bogenmessers in sägenden Bewegungen entlang der vorderen Fläche des Bügels heruntergeführt wird ohne diese zu verlassen. Die weggeschnittenen Gehirnteile entfernt man durch Umlegen der Glasplatte, worauf diese wieder senkrecht

aufgestellt und fixiert, der Bügel B je nach der gewünschten Dicke des folgenden Schnittes in die richtige Entfernung von G^1 gebracht und das Gehirn jetzt aber mit der Schnittfläche an die Glasscheibe angedrückt wird; nun wieder schneiden, die Glasplatte mit dem adhärierenden Schnitte umlegen u. s. f. wie angegeben. Die Glastafel welche rauh und etwas matt ist, um auf ihrer freien Fläche event. das Durchpausen eines Schnittes mit Bleistift zu ermöglichen, kann aus ihrem Eisengestell herausgenommen werden, so daß die dünnen (Marchi-) Schnitte — ohne berührt werden zu müssen, — entweder direkt vom Wasser weggeschwemmt oder mit der Platte in die Fixierungsflüssigkeit gebracht werden können. Eine durch obiges Verfahren gewonnene Zeichnung kann nach Abspülung des Schnittes sofort auf photographischem Wege (z. B. mittels Bromsilberpapiers) fixiert werden, worauf die Platte durch einfaches Abwaschen wieder für den weiteren Gebrauch tauglich gemacht wird. Falls das Gehirn in der erwähnten Chrombeize eingelegt war, empfiehlt es sich nicht, länger als 8 bis 10 Tage mit der Zerteilung in Scheiben zu warten, da sich sonst das zu hart gewordene Präparat nur schlecht schneiden läßt und auch die Durchtränkung mit Chromlösung an der Peripherie und im Inneren ungleichmäßig wird.

Die auf diese Weise durch das Gehirn geführten Schnitte trägt man nun in ein besonderes Schema ein. Die Dickscheiben legt man in die Fixierungsflüssigkeit übereinander, und zwar so, daß zwischen je zwei Scheiben stets eine runde, glatte Glastafel zu liegen kommt, die auf beiden Seiten mit einer mehrfachen Lage befeuchteten Filtrierpapieres versehen sein muß. Dadurch wird verhütet, daß sich die Dickschnitte werfen, oder daß Schrumpfungen an der Schnittfläche entstehen, die zu Unebenheiten führen, während das Filtrierpapier ein ungehindertes Eindringen der Beize oder Fixierungsflüssigkeit bezweckt. Ohne ausgewaschen zu werden, kommen die Dickscheiben in Alkohol von steigender Konzentration, in Alkohol abs., Alkohol-Äther und endlich in dünnes und dickes Celloïdin, welches allmählich erstarren soll.

Aus dem Celloïdin ausgeschnitten und auf passende Präparatenklötze aus Aluminium geklebt, verbleiben die Scheiben noch einige Tage in 70prozentigen Alkohol und werden dann mit dem Reichertschen Tauchmikrotom geschnitten, welches ich, was Form und Größe des Messers als auch was Führung und Stabilität betrifft, verbessert habe. Die auf ungeleimtem Filtrierpapier aufgefangenen Schnitte kommen für 24 Stunden in Kulschitzkys oder Weigerts Häma-

toxylinlösung, werden dann gründlich in Leitungswasser ausgewaschen und nach Pal differenziert, ohne daß sie während aller dieser Proze-



2.

duren vom Papier gelöst werden. Sollte sich die Beizung als ungenügend erweisen, lege man die Schnitte auf 2 bis 3 Tage (event. auf einen Tag bei Brutofentemperatur) in die angegebene Chromsalz-

lösung, welche vor der gewöhnlich angewendeten Nachchromierung mit 0,5 bis 1 Prozent Acid. chromic. den Vorzug hat, daß die Schnitte nicht brüchig werden. Ein nach diesem Verfahren hergestelltes Präparat zeigt Figur 2.

[Eingegangen am 24. Oktober 1909.]

[Aus dem Institut für Molkereiwesen und landwirtschaftliche Bakteriologie der K. K. Hochschule für Bodenkultur in Wien.]

Ein neuer Heißwassertrichter.

Von

Dr. Viktor Brudny,

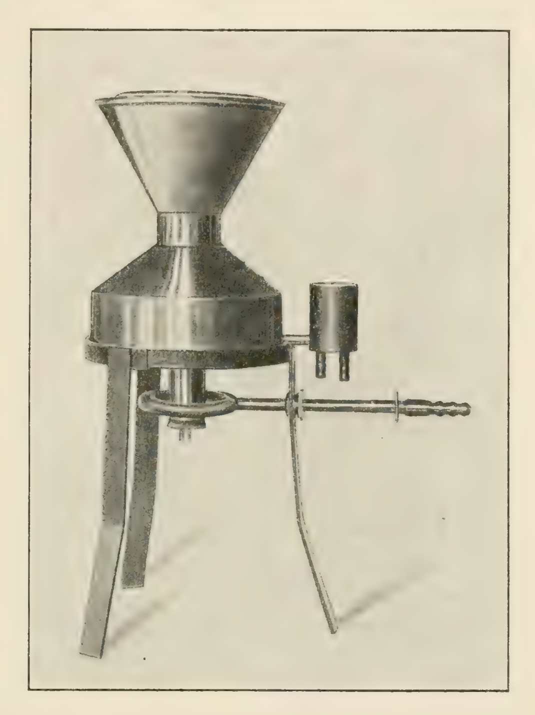
Assistent am Institut.

Hierzu zwei Textabbildungen.

Die große Zahl von Apparaten, welche bisher zum Filtrieren von Agar und anderen bei höherer Temperatur schmelzenden Substanzen empfohlen worden ist, ist der deutlichste Beweis dafür, daß diese Apparate noch mit gewissen Mängeln behaftet sind, und daß das Bedürfnis nach einer brauchbaren Konstruktion besteht.

Die bekannten einfachwandigen Warmwassertrichter mit seitlich angesetztem Heizrohr und Gummidichtung haben den Nachteil, daß die Erhitzung zu wenig intensiv erfolgt, daß das Wasser relativ rasch verdampft und bei längerem Filtrieren ersetzt werden muß, und daß der Gummiverschluß, auf dem die ganze Wassersäule lastet, leicht undicht wird und so Wasser in den Agar kommen kann. Man hat zwar bei den Heißwassertrichtern durch Anbringung eines sogenannten „konstanten Niveaus" das Nachfüllen des Wassers überflüssig gemacht und durch einen Flammenring für intensivere Erhitzung gesorgt, jedoch sind diese Apparate wegen der unvollkommenen Abdichtung nach unten noch immer leicht Störungen unterworfen.

Daraufhin hat man die genannten Nachteile durch Konstruktion doppelwandiger Heißwassertrichter zu vermeiden gesucht, doch wird bei diesen mit kochendem Wasser eine zu wenig intensive Erhitzung erreicht. Deshalb kam man auf den Gedanken, den Hohlraum eines doppelwandigen Trichters mit strömendem Wasserdampf, mit einer Flüssigkeit von höherem Siedepunkt (Glyzerin, Paraffinum liquidum)



1.

oder mit einer durch den elektrischen Strom zum Glühen gebrachten Spirale auszufüllen. Die beiden letzten Systeme führen jedoch ebenso wie beim „Dampftrichter“ von Unna zu einer Erhitzung des Agars über 100° C, die zwar ein schnelleres Filtrieren bewirkt, aber den Nachteil hat, daß die Erstarrungsfähigkeit des Agars leidet, und daß das Eiweiß der Nährlösung in einer für das Bakterienwachstum ungünstigen Weise verändert wird[1]. Die für bakteriologische Zwecke

[1]) Drigalski, v., Ein Schnellfilter für Agarlösungen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. XLI, p. 300).

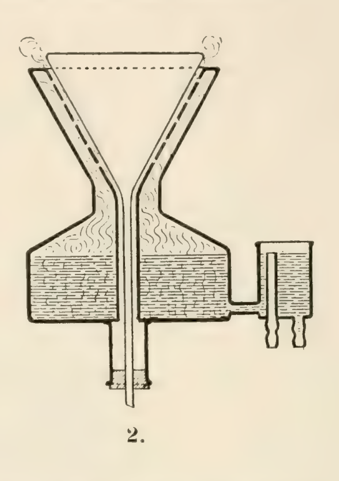
besonders geeigneten, doppelwandigen, von Dampf durchströmten Trichter (aus Glas) bedurften aber bisher eines besonderen Gefäßes zur Dampfentwicklung, das mit dem eigentlichen Trichter verbunden wurde.

Bei dem nach meinen Angaben konstruierten Apparate sind jedoch Dampfentwickler und doppelwandiger Trichter in einem Stück vereinigt. Da der Dampf aus den Löchern der inneren Trichterwand heraus und an dem Glastrichter vorbeiströmen muß, so ist auch hier der Forderung Genüge getan, daß sich zwischen Filterpapier und Wasserdampf nur eine Glasschicht befinden soll.

Der aus Kupfer angefertigte, annähernd sanduhrförmige Trichter besteht aus einem unteren, zur Aufnahme und Verdampfung des Wassers bestimmten Teil (Wasserraum), an den sich oben der Dampfraum, bzw. der doppelwandige Trichter anschließt. Die Innenwand des Trichters trägt zahlreiche Löcher im Durchmesser von 2 mm und findet nach unten ihre Fortsetzung in einem Kupferrohr, das den Boden des Wasserraums wohl durchbohrt, aber nicht darüber hinausgeht. In diesen durchlöcherten Trichter wird ein passender Glastrichter eingeschoben. Durch vier kleine, zwischen den Löchern der inneren Trichterwand nach der Spitze zu verlaufende Rippen wird erreicht, daß zwischen dem Glas- und Kupfertrichter ein Hohlraum von wenigen Millimetern freibleibt. An die äußere Bodenfläche des Wasserraums ist noch ein kurzes, weites Rohr angeschlossen, das zur Aufnahme des zwischen dem Glas- und Kupfertrichter sich bildenden Kondenswassers bestimmt ist und unten durch einen vom Glastrichterrohr durchbohrten Gummistöpsel abgeschlossen wird. Es entsteht aber auch bei längerem Gebrauche immer nur sehr wenig Kondenswasser, so daß die Gefahr, daß dieses in den Agar gelangen könnte, hier ganz ausgeschlossen ist.

Die Intensität der Erhitzung kann durch einen verstellbaren, nach Art der Bunsenbrenner konstruierten Flammenring reguliert werden. Durch ein an die Wasserleitung angeschlossenes sogenanntes „konstantes Niveau“ wird die jeweilig verdampfende Wassermenge sofort wieder ersetzt und somit ein ununterbrochenes Arbeiten des mit Agarlösung gefüllten Trichters auch ohne Aufsicht ermöglicht. Das dreifüßige Stativ trägt zugleich den Kupfertrichter und den Flammenring, ist jedoch nur mit dem letzteren fest verbunden. Während des Gebrauches wird der Glastrichter zweckmäßig mit einem emaillierten Deckel überdeckt, um jeden Wärmeverlust zu vermeiden. Der vollständige Apparat ist etwa 41 cm hoch.

Es ist vielleicht nicht überflüssig, zu bemerken, daß jeder der verschiedenen Heißwassertrichter scheinbar versagen kann, wenn bei der Herstellung des Agars nicht gewisse Bedingungen eingehalten werden. Ich will von den zahlreichen gegebenen Vorschriften nur soviel hervorheben, daß die mindestens 2 Stunden lang und vollkommen klargekochte und neutralisierte Agarlösung kochend heiß auf das Filter gegossen werden muß, weil sonst das Filtrieren — besonders das von peptonreichen, aus Fleischwasser hergestellten Nährböden — zu lange dauert. Achtet man auf diese Vorschrift, so erfordert das Filtrieren von Agar durch geeignetes, vorher mit warmem Wasser angefeuchtetes Filterpapier[1] nur eine relativ kurze Zeit und liefert vollkommen klare Nährböden, während man bei Verwendung anderer Filtermaterialien (Watte, Glaswolle, Sand usw.) oder anderer Filtriermethoden (Sedimentieren, Filtrieren unter Druck, durch Absaugen usw.) zwar rascher filtrierende, aber nie so klare und durchsichtige Nährböden erhält.



2.

Der beschriebene Apparat ist in dem bakteriologischen Laboratorium der hiesigen Hochschule schon seit länger als einem Jahre in Gebrauch und hat sich im Vergleich zu den älteren Warm- und Heißwassertrichtern sehr gut bewährt. Er ist für Österreich-Ungarn von der Firma Heinrich Kappeller, Wien, Roem 5/1, für die übrigen Länder von Franz Hugershoff in Leipzig in einwandfreier Ausführung zu beziehen und wurde von beiden Firmen mit Musterschutz versehen.

---

[1]) Die Firma Carl Schleicher & Schüll (Düren, Rheinland) bringt für die Zwecke der Agarfiltration besondere Sorten von Filterpapier (No. 1117 und No. 520) in den Handel.

[Eingegangen am 21. August 1909.]

A propos de la déshydratation des coupes montées sur lames porte-objet.

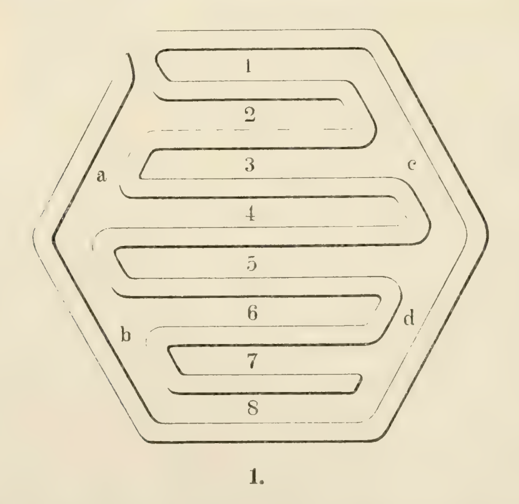
Par

Ch. Funck

de Nancy.

Avec 2 figures.

Le passage des lames porte-objet à travers les différents liquides: alcool hydraté, alcool à 95⁰, alcool absolu, alcool-xylol, xylol (ou toluol etc.), peut être facilité par le dispositif suivant:



1.

D'abord les flacons à pied, dont le fond est creusé en cupule sont très défectueux; 3 ou 4 lames y chevauchent régulièrement, au détriment des coupes qu'elles portent. — Prenez donc des flacons cylindriques à fond plat (10·5 à 11·5 cm de hauteur et 63 à 65 mm de diamètre: forme la plus courante). Ici 3 ou 4 lames se tiennent mieux, mais elles peuvent encore glisser et se coller l'une sur l'autre. Mettez alors dans le fond du flacon un grillage, fait d'une pièce

avec un fil de laiton. La forme en est donnée dans la figure 1 qui est grandeur naturelle. Le fil a 2·5 mm de diamètre, et laisse des espaces de 5 mm. Ce grillage doit être nickelé.

La figure 2 montre l'emploi: On pourra mettre l'une derrière l'autre 8 lames. Il est bon de placer la face où se trouve la coupe toujours du même côté (soit vers l'opérateur, soit vers le mur). Toutes les lames ne se toucheront que par leur extrémité supérieure, là



2.

($^1/_2$ grandeur).

où ne se trouve pas la coupe. — Enfin dans les cas où certaines coupes doivent rester plus longtemps dans les liquides, on peut les placer en *a*, *b*, *c*, *d* (fig. 1), où elles ne gêneront pas les autres; mais dans ce cas, tourner le côté où se trouve la coupe, vers la périphérie. La concavité du flacon empêchera le contact avec le verre. Comme ces lames tourneront le dos à celles placées dans les casiers 1, 2, . . . 8, elles ne seront pas endommagées par ces dernières.

Comme on voit, jamais, même si on agite les lames en les inclinant en bloc (en arrière ou en avant), elles ne se toucheront au

niveau des coupes. De plus, on peut mettre un grand nombre de coupes à la fois dans le même flacon, ce qui a son avantage, quand on doit traiter des trente à quarante coupes dans une après-midi; on peut ainsi faire la division de son travail. — Dernier avantage, chacun peut se faire lui-même ce dispositif ce qui écarte toute dépense supplémentaire.

Dans les laboratoires d'anatomie pathologique on est toujours forcé d'avoir à faire un grand nombre de coupes. L'emploi de ce dispositif facilite et accélère la besogne, la rend sûr, sans nuire à la minutie de l'opérateur. Il nous a paru utile de la communiquer.

[Eingegangen am 10. Oktober 1909.]

Über die Methoden der Härtemessung.

Von

Bernhard Halle

in Steglitz.

Herr Dr. Pöschl beschreibt in Bd. XXVI, Heft 1, p. 104 bis 110, eine Methode der Härtemessung, die sich der Seebeckschen anlehnt und die auch bereits von Mohs zur Aufstellung seiner Härteskala angewendet wurde. Sie beruht auf dem Ritzverfahren. Das fest montierte Mineral wird durch eine Schlittenführung in eine horizontale hin- und hergehende Bewegung versetzt und mit einer über der Schlittenbewegung angebrachten Diamantspitze geritzt. Die Härte wird bestimmt:

1. Konstante (kleine) Belastung der Spitze. Härte wird betrachtet als proportional der Abnutzungbewegungen, bis ein (sichtbarer) Ritz eintritt.

2. Konstante (große) Belastung der Spitze. Härte umgekehrt proportional dem Gewicht, welches das Mineral zieht.

3. Härte proportional dem Gewicht, welches auf die Spitze wirkt.

Diese Methode hat neben ihren Vorzügen indes verschiedene Nachteile, die mich veranlaßten eine andere aufzusuchen. So wird man bei Auswahl der Diamante selten einen solchen herausfinden, dessen Spitze sich auf die ganze Dauer der Prüfungen ungeschwächt

fein und scharf erhält, sie wird sich bei harten Mineralien leicht abnutzen, auch einen durch das Mikroskop nachweisbar splitterigen Ritz erzeugen, was die Messungen ungemein erschwert. Einen weiteren störenden Einfluß bilden die zu ritzenden Flächen selbst, welche durch ihre häufigen Unebenheiten einen gleichmäßigen Ritz zu ziehen verhindern. Diesem Übelstand durch vorheriges Abschleifen und Polieren der Flächen abzuhelfen, ist nicht ratsam, weil sich dadurch ihre Struktur und infolgedessen auch ihr Verhalten dem Diamant gegenüber ändert. Beispielsweise schneidet sich eine geschliffene und polierte Glasfläche schwerer als eine geschmolzene [1].

Die von mir erdachte und in der Mechaniker-Zeitung (1909 Heft 9, p. 81 bis 84) veröffentlichte Methode beruht auf dem Schleifverfahren [2]. Die Mineralien werden auf einer rotierenden Messingscheibe einzeln abgeschliffen, deren Gewichtsverlust bei einer bestimmten Zeitdauer des Abschliffs unter Berücksichtigung des spezifischen Gewichts den Grad der Härte bestimmt. Denn die Härten zweier Kristalle werden sich proportional verhalten den Gewichtsverlusten, die sie erleiden, wenn man sie während gleicher Zeiten, bei gleicher Geschwindigkeit der rotierenden Schleifscheibe, unter demselben Druck, mittels gleichen Schleifmittels abschleift.

Zu diesem Zweck ist eine Maschine angegeben, welche den erwähnten Anforderungen Rechnung trägt. Und da alle Vorrichtungen an der Maschine automatisch arbeiten, so ist eine ungleiche Wirksamkeit ausgeschlossen. Außer der größeren Sicherheit der Resultate gegenüber dem Ritzverfahren sind die Intervalle innerhalb der Härtenummern ziemlich beträchtlich, so daß man imstande ist auch ganz kleine Härteunterschiede zu bestimmen.

---

[1]) Diese Erfahrungen sind das Resultat meiner mehr als 30jährigen Praxis als Feinoptiker, speziell auf dem Gebiet der Kristalloptik und als Leiter der Halleschen Werkstatt.

[2]) Metalle sind hiervon ausgeschlossen, für diese hat man besondere Härteprüfungen angewendet.

[Eingegangen am 24. Oktober 1909.]

Entwicklungsmechanische Technik im letzten Dezennium.

Von

Dr. O. Levy

in Leipzig, Privatdozent für Anatomie an der Universität Halle.

Die folgenden Seiten sollen einen Überblick geben über die technischen Methoden, mit denen die entwicklungsmechanische Forschung in den letzten 10 Jahren gearbeitet hat. Es deckt sich ein solches Fazit keineswegs mit dem Bild der entwicklungsmechanischen Forschung dieses Zeitraumes selbst. Denn die weittragendsten Ergebnisse sind nicht selten mit den einfachsten Handgriffen gewonnen worden. Hier aber kommt nur das zur Sprache, was in technischer Beziehung ein gewisses Interesse erweckt, während der einfache Schnitt, der Wechsel der Temperatur und dergleichen mehr in diesem Referat kaum oder nur nebenher Erwähnung finden können, wenn auch das theoretische Resultat eines solchen Experimentes einen bedeutend höheren Wert haben sollte, als eine komplizierte Versuchsanordnung, der hier eine eingehendere Schilderung gewidmet wurde.

Von lehrbuchartigen Darstellungen unseres Stoffes erwähne ich kurz Wetzel: Experimentell embryologische Methoden in der Realenzyklopädie der mikroskopischen Technik (herausgeg. v. Ehrlich, Krause, Mosse, Rosin, Weigert, Berlin-Wien 1903); Röthig: Handbuch der embryologischen Technik, Wiesbaden 1904 und für einen Teil unseres Gebietes: Häcker: Praxis und Theorie der Zellen- und Befruchtungslehre, Jena 1899. — In den vortrefflichen neueren zusammenfassenden Werken von Korschelt-Heider, Maass, Morgan, Roux, Przibram, Jenkinson, Barfurth tritt die Technik hinter dem Gegenstande selbst naturgemäß zurück.

Methoden zur Aufzucht und Fortzucht, die für die entwicklungsmechanische Forschung von größter Bedeutung sind, jedoch hier nicht berücksichtigt werden konnten, finden sich in ausgezeichneter Weise in den Arbeiten von Paul Kammerer (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XVII, 1904: Bd. XXII, 1906, Bd. XXIII, 1907), von Hans Przibram (Die

biologische Versuchsanstalt in Wien, Zeitschr. f. biol. Technik u. Methodik, herausgeg. von GILDEMEISTER[1], Bd. I, 1908/09) und von RAYMOND PEARL und F. M. SURFACE (Apparate und Methoden, die bei experimentellen Untersuchungen über Vererbung beim Geflügel gebraucht werden, Zeitschr. f. biol. Technik u. Methodik Bd. I. 1908/09).

A. Technische Methoden für Untersuchung der künstlichen Parthenogenese.

Die ersten Untersuchungen über künstliche Parthenogenese stammen von BOURSIER (1847, zit. nach LOEB[2]) und von TICHOMIROW (1886, zit. nach LOEB[2]), der unbefruchtete Insekteneier durch Eintauchen in konzentrierte Schwefelsäure für zwei Minuten oder schwaches Reiben mit einer Bürste zur Entwicklung anregen konnte. R. HERTWIG[3] sah, daß unbefruchtete Seeigeleier, die 30 Minutenlang mit 0,1 prozentiger Strychninlösung behandelt worden waren, anfingen sich zu furchen. MORGAN[4] fand bei unbefruchteten Eiern von Arbacia in hypertonischen Lösungen den Beginn einer — atypischen — Entwicklung. Mit dem Jahre 1899 setzen die bahnbrechenden Untersuchungen JACQUES LOEBS ein, der in zielbewußter Weise die Bedingungen der chemischen Entwicklungserregung unbefruchteter Eier in einer langen Reihe von Arbeiten erforschte.

Vorbedingung für all diese Versuche ist eine strenge Sterilität des Seewassers (Erhitzung auf 50 bis 70° für 10 Minuten) und der Instrumente, damit nicht unbeabsichtigt Spermatozoen zu den Kulturen gelangen. Auch die zu eröffnenden weiblichen Tiere müssen aus demselben Grunde gründlich abgewaschen werden. — Es genügte LOEB von vornherein nicht die Entwicklung für die ersten Zellteilungen anzuregen, sondern sein Ziel war eine möglichst normale Entwicklung bis zum Larvenzustand hervorzurufen.

---

[1]) Anm.: Herr Dr. GILDEMEISTER hatte die Liebenswürdigkeit mir die bisher erschienenen Hefte dieser jungen interessanten Zeitschrift auf meine Bitte zur Einsicht zuzusenden, wofür ich ihm an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank sage.

[2]) LOEB, J., Über die chemische Entwicklungserregung des tierischen Eies. Leipzig 1909.

[3]) HERTWIG, R., Über die Entwicklung des unbefruchteten Seeigeleies. Festschrift für Gegenbauer. Leipzig 1896.

[4]) MORGAN, T. H., The action of salt solutions on the unfertilized and fertilized eggs of Arbacia and of other animals (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. VIII, 1899, p. 448).

Versuche mit Seeigeleiern.

Die erste Methode, mit der Loeb[1,2] dies erreichte, ist die sogen. rein osmotische Methode.

Wenn unbefruchtete Eier von Arbacia in hypertonisches Seewasser d. h. 50 cc Seewasser + 50 cc $\frac{10}{8}$ m $MgCl_2$-Lösung für zwei Stunden kamen und dann in Seewasser zurückgebracht wurden, so entwickelten sich normale Plutei aus ihnen.

Sehr bald konnte Loeb[3] diese Ergebnisse für Strongylocentrotus purpuratus und franciscanus bestätigen und zeigen, daß der gleiche Effekt auch mit anderen Elektrolyten NaCl, KCl, $CaCl_2$ und auch Nichtleitern wie Rohrzucker und Harnstoff erreicht wird, wenn man nur den osmotischen Druck genügend erhöht.

So konnten folgende Mischungen künstliche Parthenogenese hervorrufen: Seewasser 90 cc + 10 cc $2^1/_2$ n NaCl oder KCl für 1 bis 2 Stunden, dann normales Seewasser.

Ferner für Arbacia-Eier:

100 cc Seewasser + 25 cc 2 n Rohrzucker für zwei Stunden,
oder 82 cc Seewasser + $17^1/_2$ cc $2^1/_2$ cc Harnstoff.

Loeb[4] erkannte, daß bei diesen Versuchen nicht allein der osmotische Druck in Frage kam, sondern noch ein zweites Agens — das im Seewasser enthaltene Alkali.

Um die Wirkung des osmotischen Drucks allein zu prüfen stellte er im Anschluß an van't Hoffs Bestimmung der Seewasser-Zusammensetzung folgende neutrale Ausgangslösung her:

100 cc NaCl, 2·2 cc KCl, 1·5 cc $CaCl_2$ und 11·6 cc $MgCl_2$, alle Lösungen halbgrammolekular. In dieser neutralen van't Hoff-

---

[1]) Loeb, J., On the nature of the process of fertilization and the production of normal larval (Plutei) from the unfertilized eggs of sea urchin (Journ. of Physiology vol. III, 135, 1899, und Untersuchungen über künstliche Parthenogenese, Leipzig 1906, p. 19).

[2]) Loeb, J., On the actificial production of normal larval from the unfertilized eggs of the sea urchin (Amer. Journ. of Physiology vol. III, 434, 1900, „Untersuchungen“ usw., p. 77).

[3]) Loeb, J., Further experiments on artificial parthenogenesis and the nature of the process of fertilization (Amer. Journ. of Physiology vol. IV, 1900, p. 178. „Untersuchungen“ usw., p. 154).

[4]) Loeb, J., Zur Analyse der osmotischen Entwicklungserregung unbefruchteter Seeigeleier (Pflügers Arch., Bd. CXVIII, 1907, p. 181).

schen Lösung bringt Erhöhung des osmotischen Drucks (durch Zusatz von KCl oder NaCl) keine Parthenogenese zustande.

50 cc van't Hoffsche Lösung + 16 ccm $2\frac{1}{2}$ n NaCl (Erhöh. d. osm. Drucks) und Zusatz von 0·8 cc $\frac{n}{10}$ NaOH, Wirkungsdauer 90 Minuten, ergab 80 Prozent parthenogenetisch entwickelter Larven.

Man kann auch die Wirkung des Alkali und der hypertonischen Lösung zeitlich einander folgen lassen[1 2].

Die Eier kommen zuerst in eine neutrale hypertonische Lösung ($\frac{m}{2}$ van't Hoffsche Lösung + 10 cc $2\frac{1}{2}$ n NaCl), nachdem sie vorher durch Waschen in $\frac{m}{2}$ NaCl von Seewasser befreit waren ($\frac{m}{2}$ NaCl ist praktisch isotonisch mit Seewasser). Hier bleiben sie (optimale Dauer) 170 Minuten und werden dann in 50 cc Seewasser + 1·5 cc $\frac{n}{10}$ NaOH für 40 bis 160 Minuten gebracht. Es entstehen zahlreiche Larven.

Oder man kann die Reihenfolge umkehren[2]. Eier zuerst in 50 cc $\frac{m}{10}$ van't Hoffsche Lösung + 0·5 oder 1·0 cc $\frac{n}{10}$ NaOH für 175 Minuten. Danach in die hypertonische Lösung: 50 cc $\frac{m}{2}$ van't Hoffsche Lösung + 10 cc $2\frac{1}{2}$ n NaCl für 35 bis 50 Minuten. Gute Resultate.

Um tiefer in die Wirkungsweise der hypertonischen Lösungen einzudringen — Loeb faßt sie als oxydationserregend oder oxydationsbeschleunigend auf — stellte Loeb[3] Versuche mit Überexposition der Eier in hypertonischen Lösungen an, in denen sie der Zytolyse — durch übermäßige Oxydation — verfielen, zweitens mit Überexposition in hypertonischer Lösung bei behinderter Oxydation, wobei die Eier intakt blieben, da es ihnen an Gelegenheit fehlt, sich zu Tode zu oxydieren. Diese Verhinderung der Oxydation wurde durch zwei Methoden erreicht. Die eine, naheliegende Methode

---

[1]) Loeb, J., Zur Analyse der osmotischen Entwicklungserregung unbefruchteter Seeigeleier (Pflügers Arch. Bd. CXVIII, 1907, p. 181) und Über die chemische Entwicklungserregung des tierischen Eies. Leipzig 1909.

[2]) Loeb, J., Über die allgemeinen Methoden der künstlichen Parthenogenese (Pflügers Arch. Bd. CXVIII, 1907, p. 572).

[3]) Loeb, J., Über die Hemmung der toxischen Wirkung hypertonischer Lösungen auf das Seeigelei durch Sauerstoffmangel und Cyankalium (Pflügers Arch. Bd. CXIII, 1906, p. 487).

ist die ständige Durchleitung eines Wasserstoffstromes. Die andere beruht darauf die Oxydationsvorgänge in der Zelle zu sistieren. Das erreicht man, wie Loeb gezeigt hat, durch Zusatz von 1 bis 2 cc einer $^1/_{20}$ prozentigen KCN-Lösung zu 50 cc der Kultur-Lösung.

Loeb [1] gelangte einige Jahre nach Beginn seiner Untersuchungen über die künstliche Parthenogenese zu seiner „verbesserten Methode". Hierzu leitete ihn die Beobachtung, daß unbefruchtete Eier von Strongylocentrotus purpuratus bei Zusatz von etwas Äthylacetat und nach Zurückbringen in normales Seewasser die typische Befruchtungsmembran erhielten [2]. Kommen die Eier erst für zwei Stunden in hypertonisches Seewasser, dann in äthylacetathaltiges, schließlich in normales Seewasser, so entwickeln sich die meisten Eier zu schwimmenden Larven.

Loeb [3] schildert die verbesserte Methode für Strongylocentrotus purpur. in seiner letzten zusammenfassenden Publikation folgendermaßen:

Die Eier werden in 50 cc Seewasser + 2·8 cc $\frac{n}{10}$ Buttersäure gebracht (die vorher gründlich gemischt wurden). Bei 15° C wird nach $1^1/_2$, 2, $2^1/_2$ und 3 Minuten je eine Portion der Eier in je 200 cc Seewasser übertragen. In einer oder mehreren dieser Schalen bilden alle Eier normale Befruchtungsmembranen.

Es ist dabei zu beachten, daß man nicht zu viele Eier in das säurehaltige Seewasser bringen darf. Es ist auch nötig, die Eier vor dem Übertragen in das normale Seewasser durch gelindes Rotieren des Gefäßes auf einen Haufen zusammenzubringen, so daß man sie mit einer Pipette mit nur wenig Säure in das normale Seewasser übertragen kann.

Nachdem die Eier aus dem säurehaltigen Seewasser in normales Seewasser übertragen sind, bringe man sie (nicht sofort) nach 15

---

[1]) Loeb, J., On an improved method of artificial Parthenogenesis. University of California Publications vol. II, p. 83, 1905. „Untersuchungen" usw. p. 315.

[2]) Hertwig, O. u. R., (Über den Befruchtungs- und Teilungsvorgang des tierischen Eies unter dem Einfluß äußerer Agentien, Jena 1887), hatten schon gefunden, daß Seeigeleier in mit Chloroform geschüttelten Seewasser eine Membran bilden. Curt Herbst (Über künstliche Hervorbringung von Dottermembranen am unbefruchteten Seeigelei. I. Mitt. Biol. Zentr. Bl. Bd. XIII, 1893, p. 14, 1903, p. 445, II. Mitt. der zool. Stat. Neapel, Bd. XVI., 1903, p. 445) fand Xylol, Toluol, Benzol und metallischem Silberniederschlag in demselben Sinne wirksam.

[3]) Loeb, J., Über die chemische Entwicklungserregung des tierischen Eies. Leipzig 1909.

bis 20 Minuten oder noch etwas später in das hypertonische Seewasser, und zwar 50 cc Seewasser + 8 cc $2\,^1/_2$ n NaCl. Von hier werden sie nach 15 bis 60 Minuten bei 15° C, portionsweise in Intervallen von je fünf Minuten, in normales Seewasser übertragen. Nach der Übertragung in normales Seewasser fangen diejenigen Eier, welche gerade lange genug in dem hypertonischen Seewasser gewesen waren, an, sich zu furchen und zu entwickeln.

Es ist nötig, daß nicht zu viele Eier in eine Schale mit hypertonischem Seewasser gebracht werden, da sie sich sonst den Sauerstoff gegenseitig streitig machen. Auch muß man die Eier in flachen Schalen halten, damit die Wasserschicht, welche dieselben bedeckt, nicht zu hoch ist und so die Diffusion des Sauerstoffs der Luft zu den Eiern zu stark verzögert.

Die hypertonische Lösung kann natürlich mit einer Reihe anderer Stoffe erzielt werden, wie Rohrzucker, LiCl, KCl, MgCl, $CaCl_2$.

Wie Buttersäure[1] wirken mehrere andere Fettsäuren membranbildend, nur ist die Expositionszeit für optimale Resultate verschieden: Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure, Caprylsäure, Nonylsäure. Die höheren Fettsäuren wirken schneller als die niedrigen.

Praktisch nicht so angenehm, aber theoretisch sehr wichtig ist die folgende Methode[2] künstliche Parthenogenese zu erzeugen:

Mittels Buttersäure wurde bei den Eiern von Strongylocentrotus purpur. die Membranbildung hervorgerufen. Nach 43 Minuten wurden die Eier aus dem normalen Seewasser (in welchem sie die Membran nach Buttersäurebehandlung bekommen hatten) in 50 cc Seewasser + 2 cc $\frac{1}{20}$ Prozent KCN (Hemmung der Oxydation und „Erholung“ von den Vorgängen der Membranbildung). Hier bleiben sie am besten drei Stunden, kommen dann in normales Seewasser (mehrfach gewaschen). 90 Prozent der so behandelten Eier entwickeln sich zu Larven. Keine andere Methode der künstlichen Parthenogenese gibt eine so schöne, völlig normale Furchung wie die letztbeschriebene.

Hieran schließen sich neuere Methoden der künstlichen Parthenogenese mit spezifischen, hämolytisch wirkenden Stoffen[3]. Vier Tropfen einer $^1/_4$ prozentigen Saponinlösung zu 5 cc Seewasser ergibt nach 5 bis 8 Minuten in der Lösung selbst Membranbildung; wäscht man die Eier nun gründlich aus und behandelt sie 93 Minuten

[1]) Loeb, J., „Chemische Entwicklungserregung“ usw. 1909, p. 65.

[2]) Loeb, J., „Chemische Entwicklungserregung“ usw. p. 73 bis 75.

[3]) Loeb, J., Über die Hervorrufung der Membranbildung und Entwicklung beim Seeigelei durch Blutserum von Kaninchen und durch zytolytische Agentien (Pflügers Arch. Bd. CXXII, 1908, p. 199).

lang in 50 cc Seewasser + $6\frac{1}{2}$ cc $2\frac{1}{2}$ n NaCl, so entwickeln sich 80 Prozent zu Larven.

Ähnlich Solanin, Digitalin, gallensaure Salze. Ebenso Seifen. Unbefruchtete Eier in 50 cc $\frac{n}{2}$ NaCl + 0,2 cc Natriumoleat; nach zwei bis drei Minuten in Seewasser; hier Membranbildung; wiederholtes Waschen; dann für 30 bis 50 Minuten in hypertonisches Seewasser; darauf in normales Seewasser. Eine beträchtliche Anzahl der Eier entwickelt sich auf diese Weise zu Larven. Praktisch ist die Methode nicht ratsam, weil die zytolytische Wirkung der Seifen sehr stark ist.

Auch Benzol, Toluol, Amylen, Chloroform, Aldehyde, Äther, Alkohol (also fettlösende Stoffe) können, wenn man rasch arbeitet, Larvenentwicklung hervorbringen.

Ähnlich sind die Versuche, die Membranbildung und künstliche Parthenogenese durch Serum[1] einzuleiten.

Durch einen Einschnitt in den Körper eines weiblichen Sipunculide — Dendrostoma — wurde die Körperflüssigkeit gewonnen und mit 50 bis 200 cc Seewasser zentrifugiert. 3 cc Seewasser + 1 bis 4 Tropfen dieses verdünnten Gewebesaftes ergibt bei einem Teil der hiermit behandelten Seeigeleier Befruchtungsmembran und Beginn der Entwicklung. (Nur 20 Prozent der benutzten Seeigelweibchen gaben brauchbare Eier.) Die Entwicklung wird bis zur Larve fortgesetzt, wenn die Eier unmittelbar nach der Membranbildung in hypertonisches Seewasser (50 cc Seewasser + 8 cc $2\frac{1}{2}$ n NaCl) für 30 bis 60 Minuten kamen. Ebenso aber nicht in so starken Verdünnungen wirkt Säugetierserum, das mit Seewasser isoosmotisch gemacht wurde (zu je $6\frac{1}{2}$ cc Serum 1 cc $2\frac{1}{2}$ n NaCl). Zu einer kleinen Quantität Seewasser wurden kleine Quantitäten des so zubereiteten Rinder-, Schweine-, Kaninchenserum getan. Die Wirksamkeit wird stark erhöht durch Temperatur von 31° bis 34° oder durch $\frac{3}{8}$ grammol. $SrCl_2$-Lösung statt des Seewassers. Nur 10 Prozent Weibchen sind brauchbar. Hypertonische Lösung nach auf solche Weise erzielter Membranbildung gibt normale Larven.

Mit Spermaextrakt hat zuerst WINKLER[2] ernstliche Versuche angestellt. Doch LOEB[3] zeigte, daß WINKLERS Samenextrakt

[1]) LOEB, J., Über die Hervorrufung der Membranbildung beim Seeigelei durch das Blut gewisser Würmer (PFLÜGERS Arch., Bd. CXVIII, 1907, p. 36.)

LOEB, J., Weitere Versuche über die Entwicklungserregung des Seeigeleies durch das Blutserum von Säugetieren (PFLÜGERS Arch., Bd. CXXIV, 1908, p. 37).

[2]) WINKLER, H., Über die Furchung unbefruchteter Eier unter der Einwirkung von Extraktivstoffen aus dem Sperma (Nachrichten d. Ges. d. Wissensch. zu Göttingen, 1900, p. 187).

[3]) LOEB, J., „Chemische Entwicklungserregung" usw., 1909.

sowohl als hyperalkalische als auch als hypertonische Lösung wirkte; daher sind die Resultate nicht einwandfrei.

Kupelwieser[1] erreichte Membranbildung bei Seeigeleiern durch sehr konzentrierten Mollusken-Samen von Mytilus. Verschiedene Spermaextrakte leistete dasselbe.

Sperma von Chilon, Asterias, Asterina, Strongylocentrotus francisc. und purpur. wurde auf 70 bis 100° erhitzt, filtriert. Bei den Eiern von Strongylocentrotus purpur. ergab dieses Filtrat Membranbildung und nach weiterer Behandlung mit hypertonischem Seewasser Entwicklung von Larven. Nur jedes fünfte Weibchen war brauchbar.

Loeb hält den Effekt des Sperma in diesen Fällen durch das dem Sperma beigemengte Serum bedingt.

Die ursprüngliche osmotische Methode der Entwicklungserregung gibt Entwicklung ohne Membranbildung. Eine andere Methode der Entwicklungserregung ohne Membranbildung ist folgende[2].

Unbefruchtete Seeigeleier kommen in eine Mischung von 1 cc Schweineserum und 1 cc mit Seewasser isotonischer $SrCl_2$-Lösung. Nach fünf Minuten wird die Lösung abgesaugt und durch Seewasser ersetzt, dieser Prozeß wird viermal wiederholt. Die Eier bleiben vier Stunden lang im Uhrschälchen und werden dann in eine größere Schale mit Seewasser übertragen. Ein kleiner Teil der Eier bildet Membranen und geht dann zugrunde. Von den anderen Eiern aber, die keine Membran gebildet haben, fangen einige an, sich zu furchen und diese entwickelten sich zu normalen schwimmenden Larven.

Noch eine neue Methode[3] für Entwicklungserregung ohne Membranbildung hat Loeb jüngst mitgeteilt: Unbefruchtete Eier in $\frac{m}{2}$ Natriumbutyratlösung für 6 Stunden. 2 Prozent der Eier entwickeln sich zu normalen Larven, und zwar ohne Membranbildung.

In Neapel scheint die Entwicklungserregung ohne Membranbildung leichter vor sich zu gehen. Loeb vermutet (Chem. Entwicklungserregung, p. 152), daß in den Versuchen von E. P. Lyon[4] an Arbacia pustulata in Neapel die Entwicklungserregung ohne Membranbildung erfolgte. Lyon

---

[1]) Kupelwieser, Hans, Versuche über Entwicklungserregung und Membranbildung bei Seeigeleiern durch Molluskensperma (Biol. Zentralbl. Bd. XXVI, 1906, p. 744).

[2]) Loeb, J., Weitere Versuche über die Entwicklungserregung des Seeigeleies durch das Blutserum von Säugetieren (Pflügers Arch. Bd. CXXIV, 1908, p. 37).

[3]) Loeb, J., „Chemische Entwicklungserregung“ usw. 1909, p. 151.

[4]) Lyon, E. P., Experiments in artificial parthenogenesis (Amer. Journ. of Physiolog. vol. IX, 1903, p. 308).

verwandte HCl allein (was beim Kalifornischen Seeigel keine Parthenogenese hervorbringt). Optimale Bedingungen waren z. B. in 100 cc Seewasser $+ 2$ cc $\frac{n}{10}$ HCl bei einer Exposition von 10 bis 15 Minuten.

Herbst[1] sah Entwicklung einiger Eier zu Larven ohne Membranbildung, wenn er die Eier für 2 bis 8 Minuten in 50 cc Seewasser $+ 3$ cc $\frac{n}{10}$ Essigsäure brachte.

Delage[2] fand Entwicklung von Paracentrotus lividus ohne Membranbildung nach einstündiger Behandlung in 50 cc einer Mischung von Zuckerlösung (1·135 N) und NaCl-Lösung (0·62 N) $+ 27$ Tropfen einer $\frac{n}{10}$ Gerbsäure und dazu nach 5 Minuten 30 Tropfen einer $\frac{n}{10}$ Ammoniaklösung.

Diese Versuche bedeuten dadurch einen sehr wichtigen Fortschritt, daß die Eier sich bis zum Stadium der Imago entwickelten, während bisher nach Erreichen des Pluteus-Stadiums die Entwicklung still stand.

Die künstliche Parthenogenese ist nicht bloß am Seeigelei, sondern bei einer Reihe sehr verschiedener Tierarten hervorgerufen worden.

Versuche an Seesterneiern.

Bei den reifen Seesterneiern (Asterina) rufen (nach Loeb[3]) dieselben Mittel (nur in anderer Konzentration) Befruchtungs-Membranen hervor wie beim Seeigelei. Sie bedürfen aber nicht unbedingt einer Nachbehandlung für die weitere Entwicklung. Es genügt z. B. Eier von Asterias Forbesii nach der Reifung in 100 cc Seewasser $+ 3$ bis 5 cc $\frac{n}{10}$ HCl oder HNO_3 zu bringen; werden die Eier dann in normales Seewasser übertragen, so fängt ein Teil derselben an, sich zu Larven zu entwickeln.

Delage[4] fand, daß man die Seesterneier während der Reifung auf

---

[1]) Herbst, C., Vererbungsstudien IV. (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXII, 1906, p. 473).

[2]) Delage, Yves, Les vrais facteurs de la parthénogénèse expérimentale (Arch. de zool. expér. 4. Sér., vol. VII, 1908, p. 445). Développements parthénogénétiques etc. (C. R. Acad. Sc. Paris t. CXLV, 1907, p. 448 u. p. 541).

[3]) Loeb, J. „Chemische Entwicklungserregung“ usw., 1909, p. 163.

[4]) Delage, Y., Nouvelles recherches sur la parthénogénèse expérimentale chez Asterias glacialis (Arch. de zool. expér. 3. Sér., t. X, 1902, p. 213).

eine Stunde in mit CO_2 gesättigtes Seewasser zu bringen hat, um günstige Resultate für die Parthenogenese zu erzielen.

Lillie[1] fand bei Asterias forbesii, daß eine kurz dauernde Erwärmung (20 bis 70 Sekunden) auf 38° bis 35° C die Eier zur Bildung der Befruchtungs-Membranen und zum Teil auch ohne weiteres zur Entwicklung anregt. Der günstigste Augenblick der Einwirkung ist die Zeit 10 bis 20 Minuten vor der Abtrennung der ersten Polkörperchen.

Versuche an Anneliden-Eiern.

Loeb[2] fand, daß man aus unbefruchteten Eiern von Chaetopterus schwimmende Larven erzielen kann, wenn man den Kaliumgehalt des Seewassers erhöht; ähnliches sahen Loeb und Fischer[3] bei Eiern von Amphitrite durch geringe bestimmte Erhöhung des Ca-Gehaltes des Seewassers.

Loeb[4] konnte durch Zusatz einer Spur Saponin zum Seewasser die Eier von Polypnoe, wenn sie nachher in normales Seewasser übertragen wurden zur Reifung und Entwicklung anregen. Dasselbe Resultat erreicht man in 50 cc Seewasser + 1·5 cc $\frac{n}{10}$ NaOH. Besser ist es noch die Saponin- oder NaOH-Behandlung mit der der hypertonischen Lösungen zu kombinieren.

Lefevre[5] fand bei Eiern von Thalassema, daß Behandlung mit Säuren Reifung und Entwicklung bei ihnen erzeugt.

Die besten Resultate, 60 Prozent Larven im günstigsten Fall, erhielt er in folgenden Lösungen

17 cc $\frac{m}{10}$ HNO_3 + 83 cc Seewasser Expositionsdauer 5 Minuten

15 „ $\frac{m}{10}$ HCl + 85 „ „ „ 5 „

10 „ $\frac{m}{10}$ H_2SO_4 + 90 „ „ „ 8 „

[1]) Lille, Ralph S., Momentary elevation of temperature as a means of producing artificial parthenogenese in starfish eggs and the conditions of its action (Journ. of exper. zool. vol. V, 1908, p. 375).

[2]) Loeb, J., Versuche über künstliche Parthenogenese bei Anneliden (Chaetopterus) und die Natur des Befruchtungsprozesses (Amer. Journ. of Physiolog. vol. IV, 1901, p. 423 [„Untersuchungen“ usw. p. 167]).

[3]) Loeb, J., Martin Fischer und Hugh Neilson, Weitere Versuche über künstliche Parthenogenese (Vorl. Mitt. Pflügers Arch. Bd. LXXXVII, 1901, p. 594).

[4]) Loeb, J., Über die Entwicklungserregung unbefruchteter Anneliden-Eier (Polypnoe) mittels Saponin und Solanin (Pflügers Arch. Bd. CXXII, 1908, p. 448).

[5]) Lefevre, G., Artificial parthenogenesis in Thalassema melitta (Journ. of exp. Zool. vol. IV, 1907, p. 91).

12 cc $\frac{m}{10}$ Oxalsäure + 88 cc Seewasser Expositionsdauer 8 Min.

15 „ $\frac{m}{10}$ Essigsäure + 85 „ „ „ 5 „

Lefevre beobachtete, daß bei diesen Behandlungsmethoden auch die beiden Polkörperchen sich furchten und Miniaturembryonen ergaben.

Bullot [1] brachte die Eier der Annelide Ophelia durch 2stündige Behandlung mit hypertonischem Seewasser zur Entwicklung mit regelmäßiger Furchung.

Für künstliche Parthenogenese von Amphitrite-Eiern fand Scott [2] als günstigste die folgenden tabellarisch zusammengestellten Lösungen.

Lösung	Exposition	Prozentzahl schwimmender Larven
2—5 Teile ($\frac{8}{8}$ N) $Ca(NO_3)_2$ + 98—95 Seewasser	dauernd	25 Prozent
5—10 „ ($\frac{8}{8}$ N) $Ca(NO_3)_2$ + 95—90 „	1 Stunde	15 „
5 „ ($2^1/_2$ M) KCl + 95 „	1 „	10 „
5 „ ($2^1/_2$ M) KNO_3 + 95 „	1 „	15 „
5 „ ($2^1/_2$ M) $CaCl_2$ + 95 „	1 „	20 „

Bei Molluskeneiern hat als erster Kostanecki [3], bei Eiern niederer Wirbeltieren Bataillon [4] einige erfolgreiche Versuche mit prinzipiell denselben Mitteln angestellt.

---

[1]) Bullot, Artificial parthenogenesis and regular segmentation in an Annelid (Ophelia) (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XVIII, 1904, p. 161).

[2]) Scott, J. W., Morphology of the parthenogenetic development of Amphitrite (Journ. of exp. Zool. vol. III, 1906, p. 49).

[3]) Kostanecki, K., Cytologische Studien an künstlich parthenogenetisch sich entwickelnden Eiern von Mactra (Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXIV, 1904, p. 1) und früher Vorl. Mitt.: Über künstliche Befruchtung und künstliche parthenogenetische Furchung bei Mactra (Bull. de l'Acad. d. Sc. de Cracovie, sc. nat. 1902, zit. nach d. vor. Arb.).

Kostanecki, K., Zur Morphologie der künstlichen parthenogenetischen Entwicklung bei Mactra (Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXII, 1908, p. 327).

[4]) Bataillon, E., La pression osmotique et les grands problèmes de la biologie (Arch. f. Entw. Mech. Bd. XI, 1901, p. 149).

B. Technische Methoden für Untersuchung von Befruchtungsvorgängen.

In einer neueren Arbeit schildert Roux [1] eingehend eine schon früher kurz mitgeteilte [2] Methode, den Vorgang der Selbst-Kopulation von Ei- und Spermakern mit nicht organisierten Gebilden nachzuahmen, um damit die Möglichkeit zu erweisen, daß es sich bei der Verschmelzung von Ei- und Samenkern um Kombination von einfachen physikalischen Wirkungsweisen handeln kann. Roux verfährt folgendermaßen:

In eine Glasschale mit ganz ebenem Boden von 10 bis 20 cm Durchmesser und 2 bis 3 cm hohem Rand gießt er 2 cm hoch eine gesättigte wässerige Lösung von kristallisierter oder vorher durch einige Tropfen Alkohol verflüssigter Karbolsäure und läßt die Flüssigkeit nur mit Fließpapier bedeckt am besten einige Tage an der Luft stehen. Für den Versuch werden in dieses Medium (das das Eiplasma repräsentieren soll) mit einer zugespitzten Glasröhre, welche auf der anderen Seite einen gut anschließenden kleinen Gummiballon trägt, zwei mit Methylenblau gefärbte Chloroformtropfen gebracht, die auf der Oberfläche schwimmen und hier radiäre Strahlungen (divergente Oberflächensphäre), im Innern des Medium aber gegen jeden Tropfen gerichtete konvergente Strömungen erzeugen. Die beiden schwimmenden Chloroformtropfen nähern sich einander in Richtung ihrer mittleren Verbindungslinien (schon bevor ihre Sphären sich berühren) und laufen mit zunehmender Geschwindigkeit aufeinander zu, um zu einem Tropfen zusammenzufließen. Durch mehrere Abänderungen der Versuchsanordnung wird dieser Vorgang genauer analysiert.

Die Bedingungen, unter denen die normale Befruchtung bei Seeigeleiern zustande kommt, untersuchte Loeb in neueren Arbeiten [3], deren Inhalt nicht eigentlich in ein Referat über Technik gehört.

Methoden für polysperme Befruchtung finden sich in der bekannten älteren Untersuchung der Gebrüder Hertwig [4] und bei

---

[1]) Roux, W., Eine Methode der Selbstkopulation von Tropfen (Zeitschr. f. biol. Technik u. Methodik [hrsg. v Gildemeister] Bd. I, 1908, H. 1, p. 16).

[2]) Roux, W., Die Entwicklungsmechanik der Organismen, eine anatomische Wissenschaft der Zukunft, Festrede 1889, Ges. Abh. II, p. 34.

[3]) Loeb, J., Über die Befruchtung von Seeigeleiern durch Seesternsamen (Pflügers Arch. Bd. XCIX, 1903, p. 323).

[4]) Hertwig, O. u. R., Über den Befruchtungs- und Teilungsvorgang der tierischen Eier unter dem Einfluß äußerer Agentien. Jena 1887.

Sie fanden Polyspermie eintreten bei Behandlung der Eier vor der Befruchtung für kurze Zeit mit Nikotinlösung (1:100—1:1000), mit Morphium hydrochloricum (0·4—0·6 Prozent), mit Strychninlösung (0·005 Prozent) usw.

Boveri[1], der für diese Zwecke Samen sehr konzentriert den Eiern hinzufügte, und anderen.

Auf zwei wichtige ältere Methoden über Befruchtung von W. Roux sei kurz hingewiesen. Die eine bezieht sich auf die Untersuchung der Achseneinstellung des Froscheies nach der Besamung[2], die andere ist die Methode der willkürlich lokalisierten Befruchtung[3].

Für Bastardierungsversuche ist auf frühere Untersuchungen von O. und R. Hertwig[4] zurückzugreifen. In jüngerer Zeit macht Herbst[5] einige technische Angaben für Seeigeleier.

Es ist gut eine geringe Menge Natronlauge dem Seewasser hinzuzufügen, um die Zahl der befruchteten Eier zu erhöhen. Das Optimum des NaOH-Zusatzes liegt aber für Eier verschiedener Herkunft sehr verschieden hoch, und der Umschlag zum Schlechten kann schon durch geringe Laugendosen erzielt werden. — Wärme wirkt ebenfalls günstig (24°).

---

[1]) Boveri, Th., Zellenstudien. VI. Die Entwicklung dispermer Seeigel-Eier (Jenaische Zeitschr. f. Naturw. Bd. XLIII, 1907, p. 1).

[2]) Um die Achseneinstellung, die das Froschei nach der Besamung vornimmt, zu bestimmen, brachte Roux die Eier einige Minuten nach der Besamung, mit einem Haar als Marke an der Gallerthülle versehen, in eine dicke Gummiarabikumlösung, in welcher die Gallerthülle nicht quellen und das Ei im ganzen mit den Hüllen frei schwimmend sich einstellen konnte.

Roux, W., Beiträge zur Entwicklungsmechanik des Embrys III. Über die Bestimmung der Hauptrichtungen des Froschembryos im Ei und über die erste Teilung des Froscheies (Breslauer ärztl. Zeitschr. 1885, No. 6—9, und Ges. Abh. 2, p. 289).

[3]) Um Eier von Rana fusca „lokalisiert“ zu befruchten, d. h. das Spermatozoon an einer bestimmten Stelle des Eies eindringen zu lassen, brachte Roux mit $^1/_4$ Prozent NaCl versetzten Samen mit einer spitzen Glaskanüle in die Tiefe der Gallerthülle und verhinderte gleichzeitig Quellung der Gallerte, so daß das Sperma sich zwischen ihr und der Eioberfläche nicht ausbreiten konnte.

Oder er machte mit der Cooperschen Schere einen senkrechten Schnitt in die Gallerthülle und brachte das Sperma mit einem feinen Pinsel in den Spalt. (Ebenda, Ges. Abh. 2, p. 360 u. 361 und Beiträge zur Entwicklungsmechanik des Embryos IV.) Noch besseres Resultat ergab die senkrechte Anlegung eines feinen Fadens bis in $^2/_3$ Höhe des Eies herauf und Zufügung des Samens mit dem Pinsel unter dem Faden am Boden des Gefäßes, von wo der Samen senkrecht aufsteigt (Die Bestimmung der Medianebene des Froschembryos durch die Kopulationsrichtung des Eikerns und des Spermakerns Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXIX, 1887, Ges. Abh. 2, p. 359).

[4]) Hertwig, O. u. R., Experimentelle Untersuchungen über die Bedingungen der Bastardbefruchtung. Jena 1885.

[5]) Herbst, C., Vererbungsstudien I—III (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXI, 1906, p. 173).

Bei Kombination $\frac{\text{Echinus} ♂}{\text{Sphärechinus} ♀}$ ist es vorteilhaft die Eier für eine Minute in Süßwasser zu tauchen.

Für cytologische Probleme[1] und die Vererbungsforschung[2] ist es von größter Wichtigkeit geworden, daß es gelingt, (chemisch) parthenogenetisch zur Entwicklung angeregte Eier außerdem nachher noch mit Sperma zu befruchten. Es ist hierzu nur nötig vor dem Zusatz des Samens die auf chemischem Wege eventuell erzeugte Befruchtungsmembran durch Schütteln zum Zerreißen zu bringen.

Von ebenso hervorragender Bedeutung ist die Methode von J. Loeb[3], Eier einer Tierart mit Sperma einer ganz entfernten Art zu befruchten (heterogene Befruchtung). Es gelang Loeb, Eier von Strongylocentrotus (Seeigel) mit Samen von Asterias ochracea (Seestern) in einer Lösung von 100 cc van't Hoffsche Lösung + 0·3 bis 0·4 cc $\frac{n}{10}$ NaOH zu befruchten. Es sind natürlich alle Kautelen zu berücksichtigen, um Sperma derselben Art fernzuhalten (obgleich die Befruchtungsfähigkeit der Seeigeleier durch Samen derselben Art in dieser Lösung äußerst gering ist). Es ist nötig, das Seewasser auf 60^0 zu erhitzen; es müssen ferner immer Kontrollversuche angesetzt werden, um eventuell eintretende parthenogenetische Entwicklung zu erkennen. In einer späteren Untersuchung verwandte Loeb alkalisches Seewasser. In 100 cc Seewasser + 1 bis 2 cc $\frac{n}{10}$ NaOH lassen sich Strongylocentrotus purpuratus-Eier mit Samen von Asterias ochracesa und capitata, von Pycnopoda spuria und Asterina (aber in viel geringerem Prozentsatz) und von Schlangen-

[1]) Loeb, J., Über die Superposition von künstlicher Parthenogenese und Samenbefruchtung (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXIII, 1907, p. 479).

[2]) Herbst, C., Vererbungsstadien IV. u. V. IV. Das Beherrschen des Hervortretens der mütterlichen Charaktere [Kombination von künstlicher Parthenogenese und Befruchtung] (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXII, 1906). V. Auf der Suche nach der Ursache der größeren oder geringeren Ähnlichkeit der Nachkommen mit einem der beiden Eltern (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXIV, 1907, p. 185).

Siehe auch: Tennent, D. H., u. Hogue, M. J., Studies on the development of the starfish egg (Journ. of exp. Zool. vol. III, 1906, p. 517).

[3]) Loeb, J., Über die Befruchtung von Seeigeleiern durch Seesternsamen (Pflügers Arch. Bd. XXIX, 1903, p. 323). [Vorl. Mitt. in University of California publications, Physiologie 27. IV. 1903; zit. nach Loeb.]

Loeb, J., Weitere Versuche über heterogene Hybridisation bei Echinodermen (Pflügers Arch. Bd. CIV, p. 325).

sternen befruchten. Gute Resultate geben auch 100 cc Seewasser + 0·3 cc Na_2CO_3.

Godlewsky[1] hat diese Methode von Loeb zu sehr wichtigen Vererbungsversuchen benutzt. Er befruchtete Seeigeleier mit Samen von Crinoiden (Antedon).

Loeb[2] dehnte seine Untersuchungen dann auf Arten aus, die in der Tierreihe noch entfernter voneinander stehen. So gelang ihm die heterogene Bastardierung von Echinodermeneiern mit Molluskensamen (Chlorostoma funebrale). Die optimalen Resultate erzielte er in 50 cc Seewasser + 0·8 cc $\frac{n}{10}$ NaOH.

Kupelwierer[3] konnte Eier von Strongylocentrotus purpuratus oder Echinus microtuberculatus mit Sperma von Mytilus befruchten.

Oben hatten wir gesehen, daß derselbe Autor durch Extrakt von Mytilussamen die Membranbildung bei Echinodermeneiern auslösen konnte. Hier handelt es sich um eine wirkliche heterogene Befruchtung mit nachfolgender Entwicklung (nur daß die Verschmelzung von Ei- und Spermakern ausbleibt). $^7/_{10}$ bis 1 cc halb mit Seewasser verdünnte Spermaflüssigkeit wurden über die Strongylocentrotus-Eier gegossen, die in 50 cc Seewasser lagen. Einwirkungsdauer 3 Stunden. Bei Echinus-Eiern kamen 5 bis 10 Tropfen mit Seewasser verdünnten Spermas zu 50 cc Seewasser, in welchen sich die Eier befanden. Einwirkungsdauer eine Stunde. Es ist wichtig die Eier vorher durch Schütteln von ihrer Schleimsphäre zu befreien. Da bei dieser Methode keine Membran gebildet wird, kommt es leicht zu Polyspermie.

Über Selbstbefruchtung, die spontan bei Zwittern nicht gerade häufig vorkommt, stellte Morgan[4] wichtige Versuche an; es gelang ihm, Eier von Ciona in 0·25 bis 5 % Ätherlösung mit Sperma desselben Tieres zu befruchten. (Die Ätherlösung wirkt anregend auf die Motilität des Spermatozoons.)

Befruchtung nach Schädigung des Spermas und der Eier von

[1]) Godlewski, E. jun., Untersuchungen über die Bastardierung der Echiniden- und Crinoidenfamilie (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XX, 1906, p. 579).

[2]) Loeb, J., Über die Natur der Bastardlarve zwischen dem Echinodermenei [Strongylocentrotus franciscanus] und Molluskensamen [Chlorostoma funebrale] (Arch. f. Entw. Mech. Bd. XXVI, 1908, p. 476).

[3]) Kupelwieser, H., Entwicklungserregung bei Seeigeleiern durch Molluskensperma (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXVII, 1909, p. 434).

[4]) Morgan, T. H., Self-Fertilization induced by artificial means Journ. of exp. Zool. vol. I, 1904, p. 135).

Echiniden untersuchte Herbst[1] und verwandte dabei süßes Wasser, Natronlauge, K oder Mg freies Meerwasser.

Fischel[2] behandelte Sperma von Strongylocentrotus lividus vor der Befruchtung mit einer Mischung von 2 Teilen KCl-Normallösung auf 25 Teile Meerwasser für $^1/_4$ Stunde und fand die von der Befruchtung mit diesem Sperma herrührenden Larven stärker pigmentiert.

Bardeen[3] setzte Sperma von Kröten $^1/_2$ bis 2 Stunden Röntgenstrahlen aus (harte Röhre), besamte mit diesem Sperma reife Eier derselben Art und machte sehr interessante Beobachtungen über die verringerte Befruchtungsfähigkeit dieses Spermas und die Entwicklungsstörungen der Eier in den Fällen, in welchen die Befruchtung zustande kam.

C. Technische Methoden zur experimentellen Analyse der Zellteilung[4].

Als Ausgangspunkt für die Untersuchungen auf diesem Gebiete im letzten Dezennium dienen hauptsächlich die Arbeiten der Gebrüder Hertwig[5].

Morgan[6] konnte artificielle Astrosphären in den unbefruchteten und befruchteten Eiern von Arbacia, ebenso in den unbefruchteten

---

1) Herbst, C., Vererbungsstudien III. Ist die Schädigung eines der beiden Sexualprodukte von Einfluß auf das Hervortreten der väterlichen oder mütterlichen Charaktere (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXI, 1906, p. 293; s. hierzu auch O. u. R. Hertwig 1887).

2) Fischel, A., Über die Entwicklung des Echinodermeneies unter dem Einfluß chemischer Agentien (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXVII, 1909, p. 465).

3) Bardeen, C. R., Abnormal Development of Toad ova fertilized by Spermatozoa exposed to the Roentgen Rays (Journ. of exp. Zool. vol. IV, 1907, p. 1).

4) Auf die Wiedergabe der zahlreichen Arbeiten, die sich mit der Darstellung des Zellteilungsapparates mit Hilfe von Modellen beschäftigen, habe ich verzichtet, um den Umfang des Referates nicht noch mehr auszudehnen.

5) Hertwig, O. u. R., Über den Befruchtungs- und Teilungsvorgang der tierischen Eier unter dem Einfluß äußerer Agentien. Jena 1887. — Hertwig, O., Experimentelle Studien am tierischen Ei vor, während und nach der Befruchtung. Jena 1890.

6) Morgan, T. H., The action of salt-solutions on the unfertilized and fertilized eggs of Arbacia, and other animals (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. VIII, 1899, p. 448).

Eiern von Cerebratulus und Sipunculus hervorrufen, dadurch, daß er die Eier für einige Zeit mit 1·5 % NaCl- oder 3·5 % $MgCl_2$-Lösung in Seewasser behandelte und dann in normales Seewasser zurückbrachte.

Wilson[1] gewann wichtige Einblicke in das Wesen der Astrosphären, der Kern- und Zellteilung, indem er Eier von Toxopneustes variegatus eine Minute nach der Befruchtung oder nach normaler Entwicklung der ersten Teilungsfurche in Seewasser + 2 bis 2·5 Volumprozent Äther brachte.

Häcker[2] untersuchte, angeregt durch ähnliche botanische Arbeiten, Zellteilungsanomalien, die durch Ätherlösungen bei Eiern von Cyclops hervorgerufen werden.

Er brachte mit Eisäckchen versehene Cyclopsweibchen in Ätherlösungen von 4·5 bis 5 Prozent und ließ sie 2 bis 3 Stunden darin, dann wurde ein Eisack abgenommen und konserviert, das Weibchen mit dem anderen Eisack in frisches ätherfreies Wasser gebracht und nach einiger Zeit ebenfalls konserviert. Schiller[3] nahm diese Untersuchung mit denselben Methoden wieder auf.

Yatsu[4] untersuchte operativ kernlos gemachte Eistücke von Cerebratulus auf ihre Fähigkeit Strahlungen zu bilden. Er verwandte alle Vorsichtsmaßregeln zur Abwehr von Spermatozoën und brachte die Eistücke ohne Kern in folgende Lösungen:

55prozentige Lösung $CaCl_2$ . . . . . 1 Teil
Seewasser . . . . 9 Teile

oder (nicht ganz so gut)

14·6prozentige NaCl . . . . 1 Teil
Seewasser . . . . 2 Teile

oder

18·6prozentige KCl . . . . 1 Teil
Seewasser . . . . 2 Teile

---

1) Wilson, E. B., Experimental studies in cytology. II. Some phenomena of fertilization and cell-division in etherized eggs (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XIII, 1901, p. 353).

2) Häcker, V., Mitosen im Gefolge amitosenähnlicher Vorgänge (Anat. Anz. Bd. XVII, 1900, p. 9).

3) Schiller, J., Über künstliche Erzeugung „primitiver“ Kernteilungsformen bei Cyclops (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXVII, 1909, p. 560).

Siehe hierzu auch: Werner, R., Über einige experimentell erzeugte Zellteilungsanomalien (Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXI, 1903, p. 85). Verf. arbeitete an Säugetieren und benutzte den Ätherspray.

4) Yatsu, N., The formation of centrosomes in enucleated egg-fragments (Journ. of exp. Zool. vol. II, 1905, p. 287).

Hier bleiben die Stücke etwa eine Stunde und kommen dann in sterilisiertes Seewasser zurück.

Clendon[1] beraubte Seesterneier ihres ganzen Chromatins, ohne den Zelleib der Eier dabei wesentlich zu schädigen. Die Eier wurden unter einer Zeiss Binocular-Lupe während der Bildung der Reifungsspindel in folgender Weise operiert:

Eine fein ausgezogene Kapillarpipette wurde über das in Bildung begriffene Polkörperchen gebracht. Sobald die Pipette das Ei hier berührte, blieb die (unsichtbare) Membran an ihr haften. Nun wurde an der Pipette gesaugt, so daß die Richtungsspindel in die Kapillare bruchsackartig eintrat. Zugleich wurde eine zweite Pipette von größerem Kaliber an das Ei herangebracht und dadurch das Ei durch Kapillarkraft in die zweite Pipette gezogen, wobei der als Bruchsack in die erste, feine Pipette gesaugte Teil leicht abgerissen werden konnte. Es gelang so chromatinfreie Eier zu bekommen, die in CO_2-Wasser zur Asterbildung und Furchung des Protoplasmas gebracht werden konnten.

Teichmann[2] benutzte zur Unterdrückung der ersten Furche bei Echiniden die Methode von Hertwig — Abkühlen auf — 2^0 — und von Wilson — Schütteln oder Zusatz von Äther 2·5 $^0/_0$.

Vollständige Unterdrückung der Zellteilung bei trotzdem vorschreitender Entwicklung und Differenzierung (z. B. Bewimperung des Exoplama) konnte Lillie[3], wie schon früher Loeb, bei Annelideneiern (Chaetopterus pergamentaceus) durch Behandlung befruchteter oder unbefruchteter Eier für $^1/_2$ bis 1 Stunde mit einer dünnen K Cl-Lösung hervorrufen ($2\,^1/_2$ n K Cl 3 cc : Seewasser 100 cc, oder $2\,^1/_2$ n K Cl 10 cc : Seewasser 100 cc).

Mead[4] fand eine Methode eine in Latenz verharrende Kernspindel in Aktivität zu versetzen.

---

[1]) Clendon, J. F. M., The segmentation of eggs of Asterias forbesii deprived of Chromatin (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXVI, 1908, p. 662).

[2]) Teichmann, E., Über die Beziehung zwischen Astrosphären und Furchen (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XVI, 1903, p. 243). Siehe auch Boveri, Th.: Zur Physiologie der Kern- und Zellteilung (Sitzber. phys. med. Ges. Würzburg 1896). B. unterdrückte die erste Furche beim Seeigelei durch Kälte oder Pressung.

[3]) Lillie, F. R., Differentiation without Cleavage in the egg of the annelid Chaetopterus pergamentaceus (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XIV, 1902, p. 477).

[4]) Mead, A. D., The rate of cell division and the foundation of the centrosome (Biol. Lectures delivered at Woods Hole 1896/97, Boston 1898; zit. nach Loeb: Die chemische Entwicklungserregung des tierischen Eies 1909).

Im Ei von Chaetopterus und vielen marinen Anneliden bleibt die Reifungsspindel vollständig ausgebildet im unbefruchteten Ei stundenlang unverändert stehen. Erst beim Eintreten des Spermatozoon wird normalerweise die Reifungsteilung fortgesetzt. MEAD konnte durch einen kleinen Zusatz einer $^1/_4$- bis $^1/_2$prozentigen KCl-Lösung zum Seewasser die latente Kernspindel zur Vollendung der Teilung anregen (ohne Zusatz von Samen).

H. E. ZIEGLER[1] teilt die Beobachtung von SCHMAUS mit, daß man interessante Modifikationen der Zellteilung erzeugen kann, wenn man dem Kulturwasser von Seeigeleiern eine kleine Menge Liqu. plumbi subacet. hinzufügt.

D. Technische Methoden für die Untersuchung der Bedeutung des Sauerstoffs, des Wassers, der im Medium befindlichen Salze und der Schwerkraft für die Entwicklung.

Die Notwendigkeit des Sauerstoffs für die Entwicklung des Froscheies stellte schon ROUX[2] mit einer relativ einfachen Methode fest — er untersuchte befruchtete Froscheier, die in engen Glasröhren aufgereiht worden waren, so daß sie an den Enden der Röhren mit der Luft in Berührung, weiter im Innern aber von ihr abgesperrt waren. — Nach den wichtigen Arbeiten von LOEB[3], BATAILLON[4], SAMASSA[5] und HASSELBACH[6] hat sich in den letzten zehn Jahren zunächst GODLEWSKI jun.[7] mit diesem Problem beschäftigt und es, wie schon BATAILLON, auch nach der quantitativen Seite untersucht.

---

[1]) ZIEGLER, H. E., Experimentelle Studien über die Zellteilung (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XVI, 1903, p. 155).

[2]) ROUX, W., Beiträge zur Entwicklungsmechanik des Embryos III. Über die Bestimmung der Hauptrichtungen des Froschembryos im Ei und über die erste Teilung des Froscheies (Breslauer ärztl. Zeitschr. 1885, No. 6—9, Ges. Abh. Bd. II, 1895, p. 277 u. 322).

[3]) LOEB, J., Untersuchungen über die physiologischen Wirkungen des Sauerstoffmangels (PFLÜGERS Arch. Bd. LXII, 1895, p. 249).

[4]) BATAILLON, E., Evolution de la fonction respiratoire chez les embryons d'Amphibiens et de Téléostéens (C. R. Soc. de Biol. 1896).

BATAILLON, E., Nouvelles recherches sur les mécanismes de l'évolution (Arch. de Zool. exp. vol. V, 1897, p. 281).

[5]) SAMASSA, P., Über die Einwirkung von Gasen auf die Protoplasmaströmung und Zellteilung von Tradescantia, sowie auf die Embryonalentwicklung von Rana und Ascaris (Verh. naturhist. Vers. Heidelberg Bd. VI, 1898, p. 1).

[6]) HASSELBACH (Skand. Arch. Bd. X, H. 6; zit. nach GODLEWSKI).

[7]) GODLEWSKI, E. jun., Die Einwirkung des Sauerstoffs auf die Entwicklung von Rana temporaria und Versuch der quantitativen Bestimmung

Die Eier wurden im ERLMEYERschen Kolben befruchtet, der Kolben luftdicht abgeschlossen, an eine Quecksilberluftpumpe angeschlossen und $^1/_2$ Stunde nach der Befruchtung $1^1/_2$ Stunde lang evakuiert (Versuchsaufstellung von GODLEWSKI sen. für Pflanzen). Als sehr geeignet bezeichnet Verf. das Überbringen der Eier nach der Befruchtung, die in Brunnenwasser stattfinden muß, in destilliertes Wasser, was die Evakuation erleichtert.

Zum Durchleiten von Sauerstoff- oder Wasserstoffstrom wurde ein Kulturglas von KITASATO benutzt, eine runde, flache, allseitig bis auf einen Einlaß und einen Auslaß geschlossene Schale, die an dem Einlaßrohr mit dem Gasometer verbunden wurde, im übrigen, also auch mit dem Auslaßrohr, unter Wasser tauchte, so daß Luftzutritt unmöglich war.

Zur quantitativen Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs wurden die befruchteten Eier in einem luftdicht abgeschlossenen und mit Manometer versehenen ERLMEYER-Kolben gehalten. Die produzierte Kohlensäure wurde durch ein im Kolben aufgehängtes Gefäß mit Kalilauge absorbiert. Die am Manometer ablesbare Volumabnahme ergab somit den auf 760 mm Atmosphärendruck und 0° Temperatur zu reduzierenden Maßstab für den Sauerstoffverbrauch.

Zur quantitativen Bestimmung der produzierten CO_2-Menge wurde Luft, die Kalilauge und Barytwasser passiert hatte, durch zwei mit befruchteten Eiern beschickte, luftdicht verschlossene Kolben in ein mit Barytwasser gefülltes PETTENKOFERsches Rohr geleitet. Die in diesem letzten Barytwasser absorbierte, von den Eiern produzierte CO_2-Menge wurde quantitativ bestimmt. Eine weitere komplizierte Methode zur Bestimmung von O-Absorption und CO_2-Produktion in verschiedenen Entwicklungsstadien eignet sich nicht zum Referat.

O. WARBURG [1] untersuchte den Sauerstoffverbrauch unbefruchteter und befruchteter Eier von Arbacia pustulata durch quantitative Bestimmung des O im Wasser vor und nach einem bestimmten Zeitraum. Die Intensität der Atmung wurde oft nicht auf die Zahl der Eier, sondern auf die nach KJELDAHL bestimmte Stickstoffmenge derEier bezogen.

Beim Ei des Hühnchens haben schon vor längerer Zeit DARESTE und andere mit einer Methode, die Atmung zu beschränken oder zu unterdrücken, gearbeitet, mit dem Lackieren der Eischale. MITROPHANOW [2] benutzte neuerdings diese Methode wieder und benutzte wie DÜSING [3] eine flüssige Lösung von Asphaltlack in reinem Terpentinöl,

---

des Gaswechsels in den ersten Entwicklungsstadien (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XI, 1901, p. 585).

[1]) WARBURG, O., Beobachtungen über die Oxydationsprozesse im Seeigelei (Zeitschr. f. phys. Chemie Bd. LVII, 1908).

[2]) MITROPHANOW, P., Teratogenetische Studien III (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. X, 1900, p. 1).

[3]) DÜSING, C., Versuche über die Entwicklung des Hühner-Embryos bei beschränktem Gaswechsel (PFLÜGERS Arch. Bd. LXIII, 1884).

die gleichmäßig auf die Schale des frisch gelegten oder einige Zeit bebrüteten Eies aufgestrichen wurde.

Die Loeb sche Methode, die Oxydationsvorgänge im Ei durch $^1/_{20}$ Prozent KCN zu hemmen, ist im Zusammenhang mit der künstlichen Parthenogenese dargestellt worden.

Im Anschluß an die früheren Arbeiten von Davenport und Loeb u. a. über die Rolle der Wasseraufnahme während der Entwicklung untersuchte Schaper[1] das Wachstum der Froschlarven mit quantitativen Methoden.

Die Messung und Wägung zur Bestimmung von Größe, Volumen, Trockensubstanz und Asche waren die üblichen; nur für die Volumenbestimmung der jüngsten Froschlarvenstadien wandte Schaper eine besondere hier zu erwähnende Technik an. Die Volumenbestimmung nach Maßgabe der Wasserverdrängung geschah mit einer in $^1/_{20}$ cc eingeteilten Tropfbürette. Nun kam es darauf an, die (aus ihren Hüllen künstlich befreiten) Larven unverletzt in die Bürette, und zwar ohne Wasser zu bringen. Zu diesem Zwecke wurde aus einem dünnen, der Länge nach rinnenförmig gekrümmten Stückchen Zinkblech ein kleiner Schlitten von etwa 2 cm Länge und 8 mm Breite hergestellt, so daß er frei beweglich in das Lumen der Bürette hineinpaßte und bei Schräghalten der letzteren leicht in ihr auf- und abglitt. Das Volumen dieser Platte wurde bestimmt und mit ihrer Hilfe die auf sie aufgeladenen und von Wasser mittels Pipette und Fließpapier befreiten Lärvchen in die Bürette befördert.

Die Bedeutung der anorganischen Stoffe im Kulturmedium für die Entwicklung der Seeigeleier zu Larven hat Herbst[2] in eingehender Weise studiert. Er verfuhr dabei folgendermaßen:

In Anlehnung an Froschhammers Analyse des Seewassers bei Neapel und mit Abrundung der Werte wurde eine künstliche Seewassermischung hergestellt: Es wurden in 100 Teilen destilliertem Wasser zunächst gelöst 3·0 NaCl; 0·07 KCl; 0·26 $MgSO_4$; 0·5 $MgCl_2$ (statt 0·32, weil Salz sehr naß war), 0·1 $CaSO_4$. Hierzu eine Messerspitze voll phosphorsauren Kalkes; Gemisch öfters geschüttelt! Der ungelöste Rest wurde nach etwa 15 Stunden abfiltriert. Zur Lösung des Calciumkarbonates wurde eine Messerspitze gefälltes Calciumkarbonat zu der Lösung der übrigen Salze getan, dann

[1]) Schaper, A., Beiträge zur Analyse des tierischen Wachstums (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XIV, 1902, p. 307); s. hierzu auch: Loeb, J., Zusammenstellung der Ergebnisse einiger Arbeiten über die Dynamik des tierischen Wachstums (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XV, 1902, p. 669).

[2]) Herbst, C., Über die zur Entwicklung der Seeigellarven notwendigen anorganischen Stoffe, ihre Rolle und ihre Vertretbarkeit. I. Teil: Die zur Entwicklung notwendigen anorganischen Stoffe (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. V, 1897, p. 649). II. Teil: Die Vertretbarkeit der notwendigen Stoffe durch andere ähnlicher chemischer Natur (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XI, 1901, p. 617).

Kohlensäure in langsamem Strome 1/2 bis 1 1/2 Stunde hindurchgeleitet und durch Umrühren mittels eines Glasstabes das Calciumkarbonat in Suspension gehalten. Das Gefäß blieb dann 12 Stunden verschlossen stehen; Abfiltrieren des ungelösten Kalkpulvers! Die Flüssigkeit, gehörig mit Luft geschüttelt, wurde darauf in flache Glasschalen verteilt, die nochmals 24 bis 48 Stunden mit nassem Filtrierpapier bedeckt stehen blieben zur Befreiung von der überschüssigen CO_2, und um in die Mischung die notwendige Menge Sauerstoff zu bringen!

Häufig wurde statt des letzten Stehenlassen 12 bis 24 Stunden mit Durchlüftungsapparat durchlüftet.

Die Salze, die zur Lösung benutzt wurden, waren im allgemeinen von Merck-Darmstadt als „rein“ oder „garantiert rein“ bezogen (letzteres unbedingt nötig für Untersuchung der Rolle des Eisens). Sie wurden geglüht, aber nicht alle ihres ganzen Kristallwassers beraubt.

In der zweiten Untersuchung wurde statt 0·07 KCl — 0·08 KCl, statt 0·1 $CaSO_4$ — 0·16 $CaSO_4$ gelöst. Als Karbonat wurde nicht mehr $CaCO_3$ + CO_2 Strom benutzt, sondern gepulvertes Magnesiumkarbonat und 20 bis 24 Stunden ein Luftstrom durch die Lösung geleitet. Die CO_2 der Luft trug zur Lösung von Magnesiumkarbonat und Bildung von Bikarbonat bei.

Das Aquarium-Seewasser der zoologischen Station in Neapel hat höheres spezifisches Gewicht als die künstliche Mischung. Es mußte daher für die Kontrollversuche mit 10 Prozent Süßwasser verdünnt werden, was ganz ohne Schaden für die Entwicklung geschehen kann.

Bei der Benutzung des destillierten Wassers muß Rücksicht auf eventuelle Kupferspuren[1] genommen werden.

Der Zusatz von phosphorsaurem Kalk wurde später als unnötig erkannt.

Zur Beantwortung seiner Fragestellung verfuhr Herbst meist so, daß er eine künstliche Seewassermischung herstellte, in der der zu prüfende Stoff fehlte. Die Herabsetzung der Gesamtkonzentration kommt dabei mit Ausnahme des Falles von NaCl nicht in Frage.

Bei Ersetzen eines Salzes durch ein anderes muß natürlich eine äquimolekulare Menge genommen werden. Außerdem muß das Verhältnis der osmotischen Drucke äquimolekularer Lösungen berücksichtigt werden (Multiplikation mit De Vriesschem isotonischem Koeffizienten!).

Besondere Schwierigkeiten machte die Untersuchung der Rolle des Chlors. Es war unmöglich, die 3 % NaCl einfach fortzulassen, da damit die Gesamtkonzentration zu weit gesunken wäre. Es mußte ersetzt werden, und zwar durch Natrium formicicum (3·07 % äquimol. mit 3 % NaCl).

---

[1]) Herbst, C., Über zwei Fehlerquellen beim Nachweis der Unentbehrlichkeit von Phosphor und Eisen für die Entwicklung der Seeigellarven (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. VII, 1898, p. 480).

Für die Untersuchung der Rolle des Natrium war es natürlich ebenfalls nötig, es zu ersetzen, und zwar durch Mg. Es wurde also statt des NaCl $MgCl_2$ gelöst und zwar 3 % (aus bestimmten Gründen statt 3·64, die NaCl 3 % isotonisch wären).

Die Seewassermischungen, in denen die Vertretbarkeit der notwendigen Stoffe geprüft wurde, waren folgende:

Ersatz von Sulfat durch Sulfit:

4 Parallelversuche; Aufzucht

a) in 20 cc Mischung ohne S
b) „ „ „ „ „ „ + 0·05 g Na_2SO_3
c) „ „ „ „ „ „ + 0·08 g Na_2SO_3
d) „ „ „ „ mit S (-Mischung ohne S + 0·26 $MgSO_4$).

Ersatz von Sulfat durch Thiosulfat:

4 Parallelversuche; Aufzucht

a) in 20 cc Mischung ohne S
b) „ „ „ „ „ „ + 0·07 g $Na_2S_2O_3$
c) „ „ „ „ „ „ + 0·1 g „ „ „
d) „ „ „ „ mit S (0·26 $MgSO_4$).

In ähnlicher Weise wurde geprüft:

Ersatz des Sulfats durch äthylschwefelsaures Salż, durch Selenat, durch Tellurat; Ersatz des Chlorids durch Bromid, durch Jodid; Ersatz des Kaliums durch Lithium, durch Rubidium, durch Cäsium; Ersatz des Calciums durch Magnesium, durch Strontium, durch Baryum.

Maas[1] untersuchte im Anschluß an diese Arbeiten und frühere eigene Larven von Kalkschwämmen (Sycandra raphanus) in karbonatfreier aber Gips enthaltender Seewassermischung (30 g NaCl; 0·7 KCl; 4 bis 5 $MgCl_2$; 2·5 $MgSO_4$; 1 $CaSO_4$) und sah, daß die Kalknadeln nicht gebildet werden. Wurden Exemplare bald nach der Metamorphose in Ca-freies Wasser gebracht, so schwand der Nadelpelz und die Zwischensubstanz wurde reduziert.

Die Frage nach der Bedeutung der Schwerkraft für die tierische Entwickluug war durch Pflüger in Fluß gekommen. Die die Lage des Medullarrohres im Ei bestimmende Bedeutung, die Pflüger aus seinen Versuchen mit „Zwangslage“ der Froscheier in ihren an der Quellung verhinderten Hüllen entnahm, wurde von Roux[2] durch einwandfreie Experimente zurückgewiesen.

---

[1]) Maas, O., Über die Einwirkung karbonatfreier und kalkfreier Salzlösungen auf erwachsene Kalkschwämme und auf Entwicklungsstudien derselben (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXII, 1906, p. 581).

[2]) Roux, W., Beiträge zur Entwicklungsmechanik des Embryo. No. II: Über die Entwicklung der Froscheier bei Aufhebung der richtenden Wirkung

O. Schultze[1 2] stellte das Problem durch interessante, aber in ihrer Deutung recht angreifbare Versuche von neuem zur Diskussion.

---

der Schwere (Breslauer ärztl. Zeitschr. 1884, Ges. Abh. II, p. 256). Besamte Froscheier wurden in nasser Watte in kleinen Drahtkörben verpackt mit einem Rade (um eine wagerechte Achse) bei einem Radius von 1 bis 8 cm in langsame, 1 bis 2 Minuten dauernde Umdrehungen versetzt, wobei weder die Schwerkraft noch die Zentrifugalkraft einen richtenden oder ordnenden Einfluß ausüben konnte. Gleichzeitig und noch beweisender brachte Roux an der langsam sich drehenden Welle ein 6 cc langes Reagenzglas an, in welchem voneinander isolierte Eier in einer das Glas bloß zur Hälfte erfüllenden Flüssigkeit lagen. In diesem Glase fielen bei jeder Umdrehung zweimal die Eier unter verschiedentlicher Überstürzung von dem einen Ende des Glases nach dem anderen. Sogenannte „Überschlagseier".

[1]) Schultze, O., Über die Bedeutung der Schwerkraft für die organische Gestaltung (Verh. d. phys. med. Ges. zu Würzburg, Bd. XXVIII, No. 2, 1894). Hierzu auch Schultze, O., Über die Notwendigkeit der freien Entwicklung des Embryo (Arch. f. mikr. Anat., Bd. LV, 1900, p. 202).

[2]) Schultze, O., Die künstliche Erzeugung von Doppelbildungen bei den Froschlarven mit Hilfe abnormer Gravitationswirkung (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. I, 1895, p. 269 [eingehende methodische Angaben!]). Schultze beschreibt hier außerdem Versuche mit sehr langsamer einige Stunden währender Umdrehung der Eier um eine wagerechte Achse, wonach alle Eier sich grau verfärbten und abstarben. Er schloß daraus, daß die ordnende Schwerkraftwirkung zur normalen Entwicklung „nötig" sei; nach Roux folgt nur, daß bei dieser Langsamkeit der Umdrehung die normale Anordnung der ungleich spezifisch schweren Dotterteile „stört" (Verhandl. d. anat. Ges. 1894, Erg.-H. z. Bd. IX d. Anat. Anz. p. 117 u. 146, u. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. IX, p. 483). Diese langsame Umdrehung ist also keine Methode, um die Notwendigkeit der Schwerkraft für die Entwicklung zu beweisen, sondern sie zeigt nur, daß die Schwerkraft auch störend wirken kann. —

Mit der Plattenzwangslage fixierte Froscheier kehrte Schultze nach der ersten Furche um und erhielt dadurch schöne, meist unvollkommene Doppelbildungen. Die Umkehrung und die Fixation können aber nicht die zureichende Ursache der Doppelbildung gewesen sein, denn Roux hatte schon früher einen ähnlichen Versuch, aber mit Fixation der Eier durch Pflügers Zwangslage (genügende Trockenhaltung der Gallerthülle) gemacht, ohne Doppelbildungen zu erhalten. Die Wiederholung von Schultzes Versuchen mit Plattenzwangslage ergab Roux gleichfalls keine Doppelbildungen, sondern Halb- und Viertelbildungen. Letzteres leitet Roux davon her, daß er erst am Ende der Laichperiode experimentierte, zu welcher Zeit die Selbstregulation nach seinen früheren Erfahrungen sehr geschwächt ist. Die Selbstregulation hält er zur mehr als halber Embryobildung aus jeder Eihälfte für nötig. Zur Entstehung der Schultzeschen Doppelbildungen gehört nach Roux daher die „Kombination" von starker Pressung der Eier mit ihrer Umkehrung nach der ersten Furche zu einer Zeit, in der die Selbstregulation noch stark genug ist, die durch die Wirkung

Er benutzte, wie auch später Mosckowski[1], die Zwangslage des Eies, die schon durch die Arbeiten von Pflüger, Roux, Born und O. Hertwig zu einer sehr wichtigen Methode geworden war, und die Umkehrung der in Zwangslage aufgesetzten Eier um 180°.

Schultze verfährt zunächst im wesentlichen nach Roux und schildert sein Verfahren folgendermaßen: Man setzt mit einer trocknen feinen Lanzette oder mit fein zugespitzter Pinzette aus dem Uterus genommene Eier einzeln auf trockene Glasplatten in der gewünschten Lage auf, legt die Platte mit den Eiern auf einen großen Teller und läßt aus einem Zerstäubungsapparat so lange einen feinen Wasserregen über die Platte gehen, bis nach einigen Sekunden diese mit einer gleichmäßigen Wasserschicht bedeckt ist. Die Platte mit den festklebenden Eiern wird nun in die bereit stehende Schale mit Samenflüssigkeit für einige Minuten (je nach dem Grad von Quellung der Hüllen, resp. von Zwangslage, den man erreichen will) gebracht und kommt dann nach Absaugen des Wassers mit Fließpapier in eine feuchte Kammer.

Die andere Methode ist die von Born, Roux und anderen angewandte „Plattenzwangslage", bei der die Eier zwischen planparallelen mit Gummiringen zusammengeschnürten Glasplatten gepreßt werden.

Die Einwände von O. Schultze veranlaßten Kathariner[2] die Versuche von Roux wieder aufzunehmen. Mit einer hübschen Modifikation der Rouxschen Methode der Überschlagseier bestätigte Kathariner die Ergebnisse von Roux.

Er verfuhr folgendermaßen:

Die künstlich besamten Eier kamen in ein 15 cm weites Zylinderglas. In dieses tauchte eine überall gleich weite Glasröhre bis nahe auf den Boden, die durch einen Gummischlauch mit einem durch die Wasserleitung zu betreibenden Durchlüftungsapparat in Verbindung stand. Mit dieser Versuchsanordnung ließ sich eine fortwährende ungeordnete Rotationsbewegung der Eier erzielen, so daß die Schwere als richtende Kraft nicht in Betracht kommen konnte.

In ähnlicher Weise kam Morgan[3] zu ähnlichen Ergebnissen.

---

der Schwerkraft entstandene Störung soweit zu überwinden, daß eine der Neuordnung des Dotters entsprechende Entwicklung stattfindet (W. Roux' Ges. Abh. Bd. II, 1895, p. 936).

[1]) Mosckowski, M., Zur Analysis der Schwerkraftwirkung auf die Entwicklung des Froscheies (Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXI, 1902, p. 348).

[2]) Kathariner, L., Über die bedingte Unabhängigkeit des polar differenzierten Eies von der Schwerkraft (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XII, 1901, p. 597).

[3]) Morgan, T. H., The dispensibility of gravity in the development of the toads egg (Anat. Anz. Bd. XXI, 1902, p. 313).

E. Technische Methoden für die Isolation der Blastomeren.

Die Zerlegung gefurchter Eier, die Isolation einer oder mehrerer Blastomeren nimmt seit Roux' berühmten Anstichversuchen einen breiten Raum in der entwicklungsmechanischen Forschung ein. Roux verwandte zur Abtötung einer Blastomere eine heiße Nadel, die zwischen Spitze und Holzschaft eine Metallkugel zur Speicherung der Wärme trug. Ähnliche Verfahren mit kalter und heißer Nadel und feinen Skalpellen sind dann häufig angewendet worden. In manchen Fällen genügte einfaches Schütteln zu dem beabsichtigten Zwecke. Chabry, Herlitzka und andere konstruierten komplizierte Apparate, um eine Blastomere zu töten oder beide lebend voneinander zu trennen. All diese Methoden liegen vor dem hier zu referierenden Zeitabschnitt. Im letzten Dezennium ist für das Seeigelei von Herbst eine vorzügliche Methode gefunden worden, die Blastomere zu isolieren.

Herbst[1] stellte bei Echinus microtuberc. und Sphaerechinus granularis fest, daß Ca-freies Seewasser den Verband der Zellen während der Furchung und Larvenentwicklung bis zur vollständigen Lösung lockere, ohne zunächst die Zellteilung, die Differenzierung, überhaupt die Lebensenergie zu beeinträchtigen (bei Echinus intensivere Lockerung als bei Sphaerechinus).

Er brachte die (eventuell membranlos gemachten) Eier in Ca-freie künstliche Seewassermischung, welche 3 % NaCl; 0·08 % KCl; 0·66 % $MgSO_4$, Li_2HPO_4 und etwas Eisen enthielt und konnte hierin die Blastomeren isolieren.

Bringt man auf diese Weise isolierte Furchungszellen in normales Seewasser, so teilen und entwickeln sie sich weiter, wobei die Zellen ihren Zusammenhang bewahren. (Zusatz von $MgCO_3$ zu der obigen Ca-freien Lösung hemmt etwas das Auseinandergehen der Furchungszellen.)

Bei Ascidieneiern (Myzostoma) fand er ebenfalls ein Bestreben der Furchungszellen, sich in Ca-freiem Wasser gegeneinander abzurunden.

Diese Herbstsche Methode ist von vielen Forschern zu weiteren Untersuchungen benutzt worden.

So prüfte z. B. Driesch[2] mit ihr seine früheren Schüttelversuche an Echinodermen-Eiern zum Studium des Schicksals getrennter

---

[1]) Herbst, C., Über das Auseinandergehen von Furchungs- und Gewebezellen in kalkfreiem Medium (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. IX, 1900, p. 424).

[2]) Driesch, H., Die isolierten Blastomeren des Echinidenkeimes (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. X, 1900, p. 361).

Blastomeren nach. Er konnte Eier auf jedem gewünschten Furchungsstadium zum Auseinanderfallen bringen.

Boveri[1] bedient sich für seine Zellenstudien des Ca-freien Wassers und konstruierte, mit Hilfe des Ingenieurs Storrer, einen Schüttelapparat, um das Festkleben der isolierten Blastomeren am Boden des Gefäßes und die dadurch bedingte Abplattung des sich entwickelnden Keimes zu verhindern.

Der Apparat besteht aus einer horizontalen, mit möglichst geringer Reibung auf zwei Schienen ruhenden Platte, deren obere Seite durch Leistchen in quadratische Fächer abgeteilt ist, in deren jedes eines der viereckigen sogenannten Salznäpfchen, wie sie zu derartigen Zuchten gebräuchlich sind, hineinpaßt, und zwar so, daß die Leisten zugleich die zum Zudecken des Gefäßes dienende Glasplatte am Verschieben verhindern. Der ganze so besetzte „Tisch“ wird durch die Art des Antriebes eines kleinen elektrischen Motors in kurzen Exkursionen genau horizontal hin- und hergeführt, wobei man die Schnelligkeit so reguliert, daß das Wasser in den Schälchen beständig langsam hin- und hergeht, ohne die Deckplatte zu benetzen. Nach 5 bis 6 Stunden solcher Bewegung ist die Gefahr des Anklebens vorüber.

Wilson[2] benutzte die Herbstsche Methode bei Patella coerulea und Dentalium entalis. Doch nahm er das Ca-freie Wasser zu gleichen Teilen mit normalem Seewasser. Die Eier, die aus dieser Lösung in normales Seewasser zurückgebracht wurden, behielten hier die Neigung, weiter in einzelne Zellen zu zerfallen.

Maas[3] sah bei Schwämmen die Lockerung des Zellverbandes der Amphiblastula in kalkfreier Lösung. Morgan[4] benutzte die Herbstsche Methode bei Toxopneustes, Driesch[5] bei Amphioxus und so fort.

Für das Ei von Ascaris hat Boveri eine Methode, eine Blasto-

---

1) Boveri, Th., Zellenstudien VI. Die Entwicklung dispermer Seeigel-Eier. Ein Beitrag zur Befruchtungslehre und zur Theorie des Kerns (Jenaische Zeitschr. f. Naturw. Bd. XLIII, 1907, p. 1).

2) Wilson, E. B., Experimental studies in germinal localization. II. Experiments on the cleavage-mosaic in Patella and Dentalium (Journ. of exp. Zool. Bd. I, 1904, p. 197).

3) Maas, O., Über die Einwirkung karbonatfreier und kalkfreier Salzlösungen auf erwachsene Kalkschwämme und auf Entwicklungsstadien derselben (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXII, 1906, p. 581).

4) Morgan, T. H., The proportionate development of partial embryos (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XIII, 1901—1902, p. 416).

5) Driesch, H., Drei Aphorismen zur Entwicklungsphysiologie jüngster Stadien (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XVII, 1903, p. 41).

mere mit ultraviolettem Licht von der Entwicklung auszuschalten, ausgearbeitet, über die Stevens[1] in folgender Weise berichtet:

Die Eier wurden mit Eiweiß auf eine Glasplatte aufgeklebt (Eiweiß durch Formalin geronnen), bis zum gewünschten Entwicklungsstadium so belassen und dann den Strahlen einer Ultraviolett-Quecksilberlampe (110 Volt, Tubus 60 cm lang, von Schott-Jena) ausgesetzt. Der nicht zu schädigende Teil des Keimes wurde mit Stanniolstreifen, die undurchlässig sind, mit Hilfe des Mikroskops, abgedeckt. Die Eier standen zugleich auf Eis, um während der länger dauernden Bestrahlung (6 bis 8 Stunden) die Entwicklung auf dem gewünschten Stadium festzuhalten. Nachher kamen die Eier in feuchter Kammer in den Thermostaten, für die Nacht auf Eis.

Für das Zerlegen gefurchter und ungefurchter Seeigeleier mit schneidenden Instrumenten haben Stevens und Peter kleine Kunstgriffe angegeben, die hier noch erwähnt werden mögen. Stevens[2] stellte eine dünne Schicht harten Paraffins auf einer Glasplatte her und führte das Messer durch das Ei gegen diese Unterlage.

Peter[3] vervollkommnete diese Methode, indem er einen durchsichtigen Celloïdinboden herstellte. Von einer 4 % Celloïdinlösung wird ein wenig in eine Glasschale so ausgegossen, daß sich eine gleichmäßig dünne Schicht bildet. Nach $^1/_2$ Stunde kommt Seewasser in die Schale, und kurz darauf ($^1/_4$ Stunde), ist der Apparat gebrauchsfertig.

F. Technische Methoden für partielle Trennung der Blastomeren.

Mit dem kalkfreien Wasser (Herbst) gelang es Driesch[4] nicht allein, die Blastomeren zu isolieren, sondern bei einigen Exemplaren wenigstens

---

[1]) Stevens, N. M., The effect of ultra-violet Light upon the developing eggs of Ascaris megalocephela (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXVII, 1909. p. 622).

Siehe hierzu auch die wichtigen Untersuchungen von E. Hertel: Beeinflussung des Organismus durch Licht (Zeitschr. f. allgem. Phys. Bd. IV, 1904). Ders.: Über physiologische Wirkung von Strahlen verschiedener Wellenlänge (ibid. Bd. V, 1905). Ders.: Über die Einwirkung von Lichtstrahlen auf d. Zellteilungsproc. (ibid. Bd. V, 1905).

[2]) Stevens, N. M., Experimental studies on eggs of Echinus microtuberculatus (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XV, 1902, p. 42).

[3]) Peter, K., Eine Methode zum Durchschneiden von Seeigel-Eiern (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXVII, 1909).

[4]) Driesch, H., Neue Ergänzungen zur Entwicklungsphysiologie des Echinidenkeimes (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XIV, 1902, p. 500).

den Zellverband so zu stören, daß eine Verlagerung der Zellen zustande kam. Membranlos gemachte Keime wurden bei Beginn der Achterteilung für 10 bis 15 Minuten in Ca-freies Wasser gebracht. Es war dann immer eine Anzahl darunter, deren Zellen mehr oder weniger stark, oft bis zur Bildung einer einschichtigen Platte derangiert waren. Hieraus entstehen dann häufig partielle Doppelbildungen.

Um die beiden ersten Furchungszellen auseinanderzuzerren, wenn auch nicht bis zur völligen Isolierung voneinander (was übrigens mit der zu schildernden Methode auch eventuell zu erreichen ist), brachte Driesch[1] Seeigeleier eine bis 2 Stunden nach der Besamung zum Teil mit Membran, zum Teil nach Entfernung der Membran in eine Mischung von 70 Teilen Seewasser und 30 Teilen Flußwasser.

Die zelltrennende Wirkung ist nicht so stark, wie die des kalkfreien Wassers (Herbst) und ist nur für die erste Furche, höchstens noch für das vierte Zellenstadium vorhanden. Die Eier blieben etwa 14 Stunden in dieser Lösung und kamen dann in normales Seewasser. Es erfolgt nun eine Zerrung senkrecht zur ersten Furche, was später als Deformierung der Larve oder in der Bildung von „Verwachsungszwillingen“ oder „teilweisen“ Zwillingen zum Ausdruck kommt.

Bataillon[2] gelang es, in folgender Weise aus dem befruchteten Ei von Petromyzon Planeri Zwillingsbildungen zu erzielen:

Wenn man befruchtete Eier 18 Stunden in NaCl-Lösung von 1 Prozent oder Rohrzucker hält, bis sich die ersten 2 bis 8 in diesen Lösungen sehr tief einschneidenden Furchen gebildet haben und sie dann in gewöhnliches Wasser bringt, so können die einzelnen Blasomeren sich für sich entwickeln, und so können aus dem Zweizellenstadium Zwillingsbildungen entstehen. Auf ähnliche Weise sind Doppelbildungen bei Eiern von Leuciscus rutitus zu erzielen.

Loeb[3] konnte Zwillinge und Verwachsungszwillinge aus dem Ei von Strongylocentrotus purpur. durch folgendes Verfahren erzielen:

Eier wurden in normalem Seewasser befruchtet, dann in einer neutralen NaCl-Lösung von Seewasser befreit und nach etwa 10 Minuten in künstliches Seewasser gebracht, das erstens neutral war, und dem zweitens ein oder mehrere der drei folgenden Ionen fehlten: Na, K, Ca. Die Eier bleiben in dieser Lösung nach Eintritt der ersten Furche noch $^1/_2$ Stunde und kommen dann in normales Seewasser. 60 bis 90 Prozent geben Zwillinge. Da es zum Teil hier wie in den vorher geschilderten Verfahren zu

---

[1]) Driesch, H., Studien zur Entwicklungsphysiologie der Bilateralität (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXI, 1906, p. 756).

[2]) Bataillon, E., La pression osmotique et les grands problèmes de la biologie (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XI, 1901, p. 141).

[3]) Loeb, J., Über die chemischen Bedingungen für die Entstehung eineiiger Zwillinge beim Seeigel (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXVII, 1909, p. 119).

vollständiger Trennung der Blastomeren kam, gehören beide Methoden auch in das vorhergehende Kapitel.

Eine interessante ältere Methode von LOEB[1] zusammengewachsene Zwillinge aus einem Ei hervorzubringen durch Behandlung von eben befruchteten noch nicht gefruchteten Eiern sei im Anschluß hieran erwähnt, obgleich die Einwirkung noch vor Bildung der Blastomeren stattfindet.

Wenn man das eben befruchtete Ei in hinreichend verdünntes Seewasser bringt, so platzt die Eimembran und eine Art Hernie entsteht, d. h. ein Teil des Eiinhaltes strömt aus, ohne von dem in der Membran bleibenden Eiinhalt getrennt zu werden. Es entstehen hieraus Doppelbildungen.

Für die Erzeugung von Doppelbildungen aus einem Ei hat SPEMANN[2] für das Amphibienei eine Schnürungsmethode mit einem Haar ausgearbeitet, die zuerst von HERTWIG angegeben worden ist.

Man entfernt die äußere Klebschicht des Eies und macht dann aus einem dünnen gleichmäßigen Kinderhaar eine doppelte Schlinge, etwa so weit wie den kleinsten Umfang der Eihülle, faßt das freie Ende mit einer feinen Pinzette, und schiebt mit einer anderen Pinzette das Ei in die Schlinge. Dann schnürt man die Hülle möglichst genau in der Mitte ganz wenig ein, und läßt das Ei durch Hin- und Herneigen so lange unter der Ligatur hindurchgleiten, bis die erste Furchungsebene genau unter der Ligatur liegt, worauf man die letztere anzieht.

Die beste Methode. die Einwirkung der Schnürung in späterem Stadium zu studieren, ist die, daß man das Ei im Zweizellen- oder Blastulastadium möglichst wenig einschnürt und dann die Ligatur in dem gewünschten Stadium schärfer anzieht.

Um die Ligatur wieder zu lösen, schneidet man ihre freien Enden kurz mit einer Schere mit dünnen Blättern kurz ab.

Einige wenige Mâle trennten sich bei den Schnürversuchen die Blastomeren vollständig ohne jede Verletzung. SPEMANN vermutet, daß in diesen Fällen die Schnürung zufälligerweise gerade in dem Stadium der Durchfurchung vorgenommen worden war, wo die beiden ersten Blastomeren den geringsten Zusammenhang untereinander hatten.

Mit derselben Methode gelingt es den Keim in bestimmten Richtungen ganz zu durchschnüren, wichtig als Methode des Defektversuches.

G. Technische Methoden für Verschmelzung von Eiern.

Das Gegenstück zur Isolierung der Blastomeren ist die vollständige oder teilweise Verschmelzung von mehreren Eiern.

[1]) LOEB, J., Über die angebliche gegenseitige Beeinflussung der Furchungszellen und die Entstehung der Blastula (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. VIII, 1899, p. 363; s. auch PFLÜGERS Arch. Bd. LV, 1893).

[2]) SPEMANN, H., Entwicklungsphysiologische Studien am Triton-Ei (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XII, 1901, p. 224; ibid. Bd. XV, 1902, p. 448; ibid. Bd. XVI, 1903, p. 551).

Driesch[1] konnte Eier von Echinus microtuberculatus oder Sphaerechinus granularis zum Verschmelzen bringen, wenn er (nach persönlichen Angaben von Herbst) durch Schütteln (3 bis 5 Minuten nach Besamung) membranlos gemachte Eier in kalkfreiem Wasser einige Zeit hielt, das durch Zusatz einiger Tropfen einer $^1/_2$prozentigen Natronlauge (6 Tropfen auf 20 cc) alkalisch gemacht wurde.

Man kann auch nach Driesch[2] (nach Angabe von Herbst) dasselbe Resultat erreichen, wenn man Echinus-Eier am Ende der Reifezeit 24 Stunden lang in nicht gar zu großer Menge, aber recht dicht gedrängt beeinander liegen läßt. Es gibt auf diese einfache Weise Verschmelzungsprodukte von 2, 3, 4, 6 Eiern, deren Kerne fast immer getrennt bleiben. Befruchtung der Verschmelzungs-Eier ist möglich, die Entwicklung unregelmäßig.

Lillie[3] beobachtete Verschmelzung von Eiern bei den Anneliden Chaetopterus pergamentareus in einer dünnen KCl-Lösung:

3 bis 10 cc $2^1/_2$ nKCl zu 100 cc Seewasser.

Durch Zusatz von Chlorcalcium wird die Verschmelzung bedeutend gesteigert, so daß bis zu 100 Eiern zusammenfließen können.

H. Technische Methoden für Defektversuche an Organanlagen, für Trennung und Verschmelzung von Organanlagen.

Prinzipiell ähnliche Methoden wie bei der Furchung greifen bei der entwicklungsmechanischen Forschung über die Organanlagen ein[4].

---

[1]) Driesch, H., Studien über das Regulationsvermögen der Organismen. 4. Die Verschmelzung der Individualität bei Echinidenkeimen (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. X, 1900, p. 411).

Siehe auch C. Herbst: Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß der veränderten chemischen Zusammensetzung des umgebenden Mediums auf die Entwicklung der Tiere (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LV, 1893, p. 496). Herbst fand in dieser Untersuchung, daß Pluteus-Larven in 1900 cc Seewasser + 100 cc 3·7 Prozent KCl miteinander verwachsen.

[2]) Driesch, H., Drei Aphorismen zur Entwicklungsphysiologie jüngster Stadien (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XVII, 1903, p. 41).

[3]) Lillie, F. R., Differentiation without cleavage in the egg of the annelid Chaetopterus pergamentareus (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XIV, 1902, p. 477).

[4]) Zuerst hat Roux (1883—1885) mit diesen Methoden Defekte an bestimmten Stellen in allen Stadien der Froschentwicklung vorgenommen, auch große Spalten und Zungenlappen gebildet, um die Leistung der einzelnen Stellen und die Selbstdifferenzierung zu ermitteln (s. Ges. Abh. Bd. II, 1895, p. 190 u. f.).

Das Abtrennen oder Zerstören einzelner Abschnitte des Embryos wird mit feinen Miniatur-Skalpellen, mit kalter und heißer Nadel[1], galvanokaustischer Schlinge[2], mit Elektrolyse[2], mit Haarschlinge[3] und mit feiner Schere[4] vorgenommen.

Einige kleine Kunstgriffe mögen hier noch erwähnt werden, die für Defektversuche an frühen und späteren Stadien nützlich sein können.

SUMNER[5] beschreibt eine Methode (von WILSON), feine Glasnadeln zu Defektversuchen herzustellen:

Ein Glasstab wurde in der Bunsenflamme zu einem dünnen Stäbchen ausgezogen und dann in 2 Zoll lange Stücke gebrochen. Um diesen eine feine Spitze zu geben, wurden sie mit einem in der Flamme weich gemachten Glasstab für einen Moment in Berührung gebracht und dann schnell von ihm abgezogen. Die Spitzen wurden (4 bis 5 mm lang) abgebrochen und in den zu beschädigenden Teil des Eies versenkt.

SPEMANN[6] empfiehlt für Defektversuche Glasnadeln, die er in folgender Weise herstellt.

Ein in der Flamme ausgezogener, am dünnen Ende mit einem Häkchen versehener Glasstab wird mit diesem Häkchen aufgehängt, das schwere dicke Ende nach unten. Durch rasches Bestreichen mit der Bunsenflamme wird nun das ausgezogene Ende noch weiter gestreckt, bis die gewünschte Feinheit erreicht ist, bzw. der kaum noch sichtbare Faden abreißt, wobei man den Stab in einem senkrecht befestigten, unten mit Watte verstopftem Glasrohr auffängt. Die so hergestellte Nadel ist schön zentriert und kann durch Aufdrücken auf ein stark erhitztes Messingblech nach Belieben gekrümmt werden.

Für ältere Embryonalstadien empfiehlt SPEMANN kleine Glasmesserchen, die er aus schmalen Deckglasstreifen in ähnlicher Weise auszieht. Er empfiehlt ferner für Operationen an Embryonen die mannigfaltigen Chitinwerkzeuge der Insekten in einer Glaskapillare als Handgriff mit etwas erhitztem Wachs befestigt.

---

1) Z. B. KING, H. D., Experimental studies on the eye of the frog embryo (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XIX, 1905, p. 85).

2) Z. B. GRÄPER, L., Untersuchungen über die Herzbildung der Vögel (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXIV, 1907, p. 375).

3) Z. B. LEVY, O., Entwicklungsmechanische Studien am Embryo von Triton taeniatus (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XX, 1906, p. 335).

4) Z. B. LEWIS, W. H., Experimental studies on the development of the eye in Amphibia (Journ. of exp. Zool. vol. II, 1905, p. 431).

5) SUMNER, F. B., A study of early fish development (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XVII, 1904, p. 92).

6) SPEMANN, H., Über eine neue Methode der embryonalen Transplantation (Verh. d. deutsch. zool. Gesellsch. 1906, p. 195).

Peebles[1] verwendete für Defektversuche an der Hühnerkeimscheibe außer der Nadel Zobelhaare oder spitze kleine Celluloid-Keile, die in den zu verletzenden Teil versenkt werden.

Bei Defektversuchen an der Hühnerkeimscheibe muß eine Öffnung in die Schale gemacht werden, die Peebles und nach ihr Gräper und andere mit Stückchen Eischale bedeckten und verklebten.

Rabaud[2] verfuhr folgendermaßen, um einen konstanten mechanischen Druck auf einen bestimmten Teil des Hühnerembryos auszuüben.

Nach vorsichtigem Eröffnen der Schale mit Säge an der Stelle des Embryos wurde ein etwa 2 mg schweres Stückchen der Schale auf den Kopfteil aufgelegt, darauf ein Stück harter Pappe mit der Kante aufgesetzt, das Pappstückchen wurde durch eine Nadel gehalten, die ihrerseits in dem zum Verschluß der Schalenöffnung dienenden Wachs befestigt wurde.

Um paarige Organanlagen, die sich normalerweise miteinander verbinden, hieran zu verbinden, hat Gräper[3] (für das Herz des Hühnchens) eine hübsche Methode erfunden.

Er konstruierte einen Drahtring von 7 bis 10 mm Durchmesser, nahm aber den zu bearbeitenden Draht länger als diesem Ringe entspricht, klopfte ihn an einem Ende breit und bog dieses schneidenartige Ende als einen Radius nach der Mitte des zu bildenden Ringes um.

Die Schale wurde in oben beschriebener Weise eröffnet, der Embryo von 28 bis 30 Stunden bebrüteten Eiern durch leichte Anfärbung mit dünnem Neutralrot in 0·75 Prozent NaCl (oder durch geringe Abkühlung des Eies vor dem Öffnen) besser sichtbar gemacht und nun der mit dünnem Überzug von hartem Paraffin (zur Vermeidung des Festklebens, auf der Dotterhaut) versehene Ring so aufgelegt, daß die Schneide auf oder kurz hinter dem Kopfende des Embryo, mit dessen Längsachse parallel, mit leichtem Druck auflag. Die mit Eierschalen oder mit Embryoskop verschlossenen Eier wurden dann noch etwa 18 Stunden bebrütet.

Organanlagen, die normalerweise getrennt bleiben, zur Verschmelzung zu bringen, gelingt im Bereiche des Kopfes bei Amphibienembryonen, wenn man (z. B. mit Haarschlinge) ein vorderes Stück

---

[1]) Peebles, F., Some experiments on the primitive streak of the chick (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. VII, 1898, p. 405).

Dieselbe: The location of the chick embryo upon the blastoderm (Journ. of exp. Zool. vol. I, 1904, p. 369).

[2]) Rabaud, E., Recherches expérimentales sur l'action de la compression méchanique intervenant au cours de l'ontogénèse des oiseaux (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXVI, 1908, p. 429).

[3]) Gräper, L., Untersuchungen über die Herzbildung der Vögel (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXIV, 1907, p. 375).

abtrennt. Beim Wundverschluß werden die normalerweise seitlich von der Mittellinie gelegenen Teile in der Mittellinie aneinandergerückt. So konnte Levy[1] beim Embryo von Triton taeniatus die beiden Augenblasen miteinander verschmelzen. (Ähnliches erhält man bei der Transplantation.)

Stockard[2] gelang es durch eine eigenartige Methode, die Augenblasen von Fundulus zu einem Zyklopenauge zu verbinden. Er zog befruchtete Eier in einer $^1/_3$ m $MgCl_2$-Lösung in Seewasser auf und sah mit großer Regelmäßigkeit 50 Prozent der Embryonen sich zu Zyklopen entwickeln.

J. Technische Methoden für Untersuchung abnormer Entwicklung unter dem Einfluß verschiedener Einwirkungen.

Die Entwicklung des Eies durch nicht lokalisierte Einwirkungen in abnorme Bahnen zu lenken, hat begreiflicherweise nicht das Interesse, wie die früher geschilderten Versuche. Doch sind auch hier sehr wichtige Ergebnisse gezeitigt worden.

Den lokalisierenden Eingriffen am nächsten kommen die Versuche mit der Zentrifuge[3].

O. Hertwig[4] hat wohl zuerst eingehende Versuche über die Wirkung der Zentrifugalkraft auf die Entwicklung (von Froscheiern) angestellt. Er betrieb den Apparat in seinen ersten Versuchen durch

---

[1]) Levy, O., Entwicklungsmechanische Studien am Embryo von Triton taeniatus (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XX, 1906, p. 335).

[2]) Stockard, C. R., The influence of external factors, chemical and physical, on the development of Fundulus heteroclitus (Journ. of exp. Zool. vol. IV, 1906, p. 165).

Derselbe: The artificial production of a single median cyclopean eye in the fish embryo by means of sea water solutions of Magnesium Chlorid (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXIII, 1907, p. 249).

[3]) Arbeiten, über den Einfluß der Elektrizität auf die tierische Entwicklung, scheinen im letzten Dezennium zu fehlen. Um so wichtiger ist es daher vielleicht auf eine frühere Arbeit von W. Roux hinzuweisen: Über die „morphologische Polarisation" von Eiern und Embryonen durch den elektrischen Strom sowie über die Wirkung des elektrischen Stromes auf die Richtung der ersten Teilung des Eies (Sitzber. d. kais. Akad. d. Wiss. in Wien, mathem.-naturw. Kl., Bd. CI, Abt. III, 1891; Ges. Abh. Bd. II, 1895, p. 541).

[4]) Hertwig, O., Beiträge zur experimentellen Morphologie und Entwicklungsgeschichte. 4. Über einige durch Zentrifugalkraft in der Ent-

Wasserkraft, später durch Elektrizität und benutzte dann einen vervollkommneten Apparat (der von der Firma Leppin & Masche in Berlin hergestellt wird).

Die wesentlichen, schon in den ersten Versuchen gebrauchten Bestandteile sind folgende:

Von der Mitte einer vertikalen Achse gingen in horizontaler Richtung vier starke Eisenstäbe von 40 cm Länge aus, zusammen ein Kreuz bildend. An einem jeden von ihnen waren mit Schrauben drei bis vier Messingkapseln in verschiedenen Abständen befestigt, liegend und rechtwinklig auf den Stäben, welche dazu bestimmt waren, die Glasröhren mit den Versuchseiern aufzunehmen. Ihr Abstand von der Umdrehungsachse betrug 40 bis 18 cm.

Die Eier wurden trocken in bestimmter Orientierung auf Objektträger mit Gallerte ohne Wasserzusatz aufgeklebt. Je ein so beschickter Objektträger wurde senkrecht und fest in einem Zylinderglas befestigt, welches in die oben beschriebenen Metallhülsen paßte. Ein Stück feuchtes Fließpapier in den Gläsern verhütete die Austrocknung.

Der Apparat machte 240 bis 280 Umdrehungen in der Minute, die Einwirkungszeit betrug mehrere Stunden.

Mannigfache Modifikationen der Furchung durch Zentrifugieren erzielte Morgan[1]. Eier von Rana silvatica im 2 — 4 — 128 Zellenstadium wurden auf einem Rade, welches 160 bis 180 Umdrehungen pro Minute machte, für 8 bis 10 Stunden zentrifugiert.

Später verwendete Morgan[2] eine bedeutend stärkere Zentrifugalkraft. Er ließ bei Rana silvatica 1600 Umdrehungen in der Minute (auf Eier von Rana silvatica vor oder gleich nach der Befruchtung während 7 Minuten, bei Eiern von Bufo variabilis während 3 Minuten) einwirken. Bei Rana-Eiern hatte kürzeres Zentrifugieren als 5 Minuten keinen deutlichen Effekt, längeres als 10 Minuten sistierte die Entwicklung.

Zur Untersuchung der Wirkung der Zentrifugalkraft bei Chaetop-

---

wicklung der Froscheier hervorgerufene Veränderungen (Arch. f. mikr. Anat. Bd. LIII, 1898, p. 415).

Derselbe: Weitere Versuche über den Einfluß der Zentrifugalkraft auf die Entwicklung tierischer Eier (Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXIII, 1903, p. 643).

Siehe hierzu auch G. Wetzel: Zentrifugierversuche an unbefruchteten Eiern von Rana fusca (Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXIII, 1903, p. 636) und A. Gurwitsch: Zerstörbarkeit und Restitutionsfähigkeit des Protoplasmas des Amphibieneies (Verh. anat. Ges. Jena 1904; Erg.-H. z. Bd. XXV d. Anat. Anz. p. 146).

[1]) Morgan, T. H., The relation between normal and abnormal development etc. (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XV, 1902, p. 238).

[2]) Morgan, T. H., The influence of a strong centrifugal force in the frogg egg (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXII, 1906, p. 553).

terus, Arbaria, Asterias, Phascolosoma benutzt Lyon[1] Gummiarabikum-Lösung, da in Seewasser die Eier wegen ihres viel höheren spezifischen Gewichts beim Zentrifugieren auf den Boden des Gefäßes getrieben und hier zu einer Masse zusammengepreßt werden. Er benutzte sehr hohe Umdrehungszahlen, 10000 bis 12000 Umdrehungen in der Minute.

Die Methoden des letzten Dezenniums, die Entwicklung durch Salzlösungen zu stören, bauen auf einer Grundlage weiter, die durch die Arbeiten von Herbst[2], Hertwig[3], Roux[4] und anderen gelegt ist.

Bataillon[5] untersuchte die auf Wasserentziehung beruhenden Störungen bei der Furchung des Neunaugeneies in isotonischen Lösungen von Kochsalz (0·2 bis ein Prozent), $CaCl_2$ (0·28 bis 1·4 Prozent), Rohrzucker (2 bis 10 Prozent).

Morgan[6] untersuchte die Entwicklungsstörungen des Froscheies unter dem dauernden Einfluß von 0·4 bis 0·6 Prozent Lithiumchloridlösungen.

Zum Vergleich hiermit wurden Lösungen mit jenen äquivalentem osmotischem Druck von Lithiumjodid, Lithiumbromid, Lithiumnitrat, Lithiumbenzoat, Lithiumsalicylat, Magnesiumchlorid, Calciumchlorid, Natriumchlorid, Rohr- und Traubenzucker angewendet und dabei gefunden, daß die Wirkung des Lithiumchlorids auf die Entwicklung nicht bloß physikalischer, sondern auch chemischer, dem Lithium eigentümlicher Natur ist.

Stockard[7] studierte die Entwicklungsstörungen des Eies von

---

1) Lyon, E. P., Results of centrifugalizing eggs. I. The specific gravity of eggs and the changes in specific gravity occuring during developement. II. Effects of centrifugalizing eggs on their development (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXIII, 1907, p. 151).

2) Herbst, C., Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß der veränderten chemischen Zusammensetzung des umgebenden Mediums auf die Entwicklung der Tiere (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LV, 1893, p. 446).

3) Hertwig, O., Beiträge zur experimentellen Morphologie und Entwicklungsgeschichte. I. Die Entwicklung des Froscheies unter dem Einfluß schwächerer und stärkerer Kochsalzlösungen (Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLIV, 1894, p. 285).

4) Roux, W., Ges. Abh. Bd. II, 1895, p. 152 u. 887.

5) Bataillon, E., La pression osmotique et les grands problèmes de la biologie (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XI, 1901, p. 149).

6) Morgan, T. H., The relation between normal and abnormal developement of the embryo of the frogg, as determined by the effect of Lithium Choride in solution (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XVI, 1903, p. 691).

7) Stockard, C. R., The development of Fundulus heteroclitus in solutions of Lithium Chlorid, with appendix on its development in fresh water (Journ. of exp. Zool. vol. III, 1906, p. 99).

Fundulus heteroclitus in Lithiumchloridlösungen. [Fundulus eignet sich vorzüglich für derartige Versuche, da es sowohl in hypertonischen (Seewasser) als hypotonischen (Süßwasser) Lösungen sich ungestört entwickeln kann.] Er verwendete Lösungen von 2·62, 2·82, 3·02 und 3·22 Prozent und fand für Lithium typische Störungen.

JENKINSON [1] untersuchte die hemmende Wirkung einer Reihe von Salzlösungen, die einer 0·625 NaCl-Lösung isotonisch waren, auf Furchung und Entwicklung der Froscheier.

Sehr früh starben die Eier in NH_4J (während der Furchung) und in NH_4NO_3, LiJ, $CaCl_2$ (während der Gastrulation). In KCl, LiCl, NaCl, K_2SO_4, Rohrzucker, $Mg(NO_3)_2$ geht die Entwicklung, wenn auch gestört, eine Zeitlang fort. In Traubenzucker ist die Entwicklung verspätet, aber normal. In Harnstoff geht die Entwicklung eine Zeitlang normal vor sich, dann sterben aber die Eier ab.

FISCHEL [2] untersuchte die Störungen bei der Entwicklung von Seeigeleiern, die er in Meerwasser + KCl oder NaCl oder $MgCl_2$ oder $CaCl_2$ züchtete.

Er verwendete z. B. 2 bis 4 Teile Normallösung von KCl auf 2·5 Teile Wasser für verschiedene Expositionszeiten oder 40 Teile $^1/_2$ nNaCl + 60 Wasser.

LEO LOEB [3] untersuchte die entwicklungshemmende und zellschädigende Wirkung des Lichtes in verschiedenen Farbstofflösungen auf befruchtete Eier von Asterias.

Er verwendete verschiedene Farbkombinationen: Eosin + Methylenblau, Neutralrot + Eosin, Säurefuchsin + Methylenblau, Säurefuchsin + Neutralrot, Eosin + Methylviolett, Eosin + Hämatoxylin, Methylenblau + Neutralrot. Die Lösung der Farbstoff-Stammlösung geschah in Seewasser, und zwar:

Eosin	1 : 5000	Hämatoxylin	1 : 10000
Säurefuchsin	1 : 5000	Neutralrot	1 : 10000
Methylenblau	1 : 10000	Neutralrot auch	1 : 5000
Methylviolett	1 : 10000		

Die Mischung für Farbkombinationen wurde in folgenden Verhältnissen vorgenommen:

[1]) JENKINSON, J. W., On the effect of certain solutions upon the development of the frogg egg (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXI, 1906, p. 367).

[2]) FISCHEL, A., Über die Entwicklung des Echinodermeneies unter dem Einfluß chemischer Agentien (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXVII, 1909, p. 465).

[3]) LOEB, L., Über den Einfluß des Lichtes auf die Färbung und die Entwicklung von Eiern von Asterias in Lösungen verschiedener Farbstoffe (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXIII, 1907, p. 359).

1) Lösung des sauren Farbstoffes 20 + Lösung des basischen 1
2) „ „ „ „ 10 + „ „ „ 1
3) „ „ „ „ 5 + „ „ „ 1
4) „ „ „ „ zu gleichen Teilen „ „
5) „ „ „ „ 1 + „ „ „ 2.

Die bedeckten Schalen mit den Eiern wurden zum Teil im Dunkeln, zum Teil im diffusen Tageslicht (selten Sonnenlicht) gehalten. Beobachtungsdauer 2 Tage.

In anderen Versuchen wurden den Farbmischungen kleine Quantitäten $^1/_{20}$ KCN-Lösung hinzugefügt, um die Wirkung des Lichtes in den Farbstofflösungen bei Herabsetzung der Oxydationsvorgänge zu studieren, und zwar zu 50 cc der Farblösung 0·1, 0·5 und 4 cc der $^1/_{20}$prozent. KCN-Lösung.

Andere Versuche wurden mit Einleiten von Wasserstoff oder Sauerstoff in die Farblösungen, ferner mit Zusatz von 1 bis 2 cc $\frac{N}{100}$ NaOH zu 50 cc Farblösung angestellt.

Im Anschluß hieran soll kurz auf die interessanten Arbeiten von Fischel[1] verwiesen werden, der Vitalfarbstoffe, besonders Neutralrot in ganz dünnen Lösungen bei entwicklungsmechanischen Untersuchungen an Echinodermeneiern verwendet hat, ebenso auf ähnliche Untersuchungen von Lillie[2] und Garbowski[3].

Die Technik bei Bestrahlung mit Röntgen- und Radiumstrahlen während der Entwicklung bedarf keiner Berichterstattung, da sie sich nicht wesentlich von den sonst üblichen Bestrahlungsmethoden unterscheidet.

K. Technische Methoden für Untersuchung der Regeneration.

Das ungeheure Gebiet der Regeneration, das durch die Arbeiten von Barfurth, Child, Morgan, Przibram, Wolff und anderen einen so gewaltigen Aufschwung genommen hat, kann an dieser Stelle kaum berücksichtigt werden. Es handelt sich technisch in den meisten

---

[1]) Fischel, A., Über vitale Färbung von Echinodermeneiern während ihrer Entwicklung (Anat. Hefte Bd. XI, 1899, H. 37, p. 461).

Derselbe: Untersuchungen über vitale Färbung (Anat. Hefte Bd. XVI, 1901, H. 52/53, p. 417).

Derselbe: Zur Entwicklungsgeschichte der Echinodermen (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXII, 1906, p. 526).

[2]) Lillie, F. R., Observations and experiments concerning the elementary phenomena of embryonic development in Chaetopterus (Journ. of exp. Zool. vol. III, 1906).

[3]) Garbowski, Th., Über Blastomerentransplantation bei Seeigeln (Bull. de l'acad. d. sc. d. Cracovie 1904; zit. nach Lillie).

Fällen nur um einen Schnitt an einer bestimmten Stelle in einer bestimmten Richtung. Nur über einige technische Besonderheiten haben wir zu berichten.

MORGAN[1] beeinflußte die Regeneration von Tubularia-Stücken in interessanter Weise (Verhinderung von Doppelstrukturen, Beeinflussung der Polarität), indem er, ähnlich wie früher schon DRIESCH, einen Seidenfaden fest um den Stamm schnürte und den Schnitt dicht hinter dem Faden führte, so daß das eine Ende des zu beobachtenden Stückes geschlossen war.

Ähnlich wie VÖCHTING das Wachstum in der Mitte umgebogener Weidenzweige untersuchte, prüfte MORGAN[2] Tubularia-Stammstücke. Es gelang ihm dies mit Hilfe einer Fadenschlinge. Als Resultat erhielt er Beschleunigung der Entwicklung des aboralen Hydranten.

SNYDERS[3] untersuchte die Wirkung von verdünntem Seewasser auf die Regeneration und Heteromorphose von Tubularia. Er verwendete verschiedene Verdünnungen im Verhältnis von 90 Teilen Seewasser zu 10 Teilen destilliertem Wasser bis zum Verhältnis 50 : 50.

Ähnlich wie ROUX ein langsam sich drehendes Rad für die Untersuchung der Schwerkraft bei der Embryonalentwicklung verwendete, verfuhr STEVENS[4] bei Prüfung dieser Frage für die Regeneration von Antennularia ramosa.

An den Speichen des Rades waren Korkplatten zur Aufnahme der Versuchsobjekte angebracht. Die Umdrehungsgeschwindigkeit betrug 20 Minuten für eine Umdrehung. Der Apparat stand in filtriertem Seewasser.

Um die Wirkung der Schwerkraft auf die Regeneration der Linse zu untersuchen, durchschnitt WOLFF[5] erwachsenen Exemplaren von Triton taeniatus das Halsmark. Die auf diese Weise in der willkürlichen Bewegung der Extremitäten gelähmten Tiere konnten so in dauernder Rückenlage gehalten werden. Da sie aber in der

---

[1]) MORGAN, T. H., Further experiments on the regeneration of Tubularia (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XIII, 1902, p. 529).

[2]) MORGAN, T. H., Some factors in the regeneration of Tubularia (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XVI, 1903, p. 125).

[3]) SNYDER, C. D., The effects of distilled water on Heteromorphosis in a tubularian Hydroid, T. crocea (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XIX, 1905, p. 1).

[4]) STEVENS, N. M., Regeneration in Antennularia ramosa (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XV, 1902, p. 429).

[5]) WOLFF, G., Entwicklungsphysiologische Studien. II. Weitere Mitteilungen zur Regeneration der Urodelenlinse (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XII, 1901, p. 307).

dritten Woche nach dieser Operation sterben, die Linsenregeneration aber erst am Ende der dritten Woche beginnt, so muß man erst die Linsenextraktion, dann eine Woche später die Durchschneidung des Halsmarks ausführen.

Mit einer verbesserten Methode — nicht dorsaler Querschnitt, sondern seitlicher Einstich mit schmalem Messer in den Wirbelkanal — soll es zu erreichen sein, daß das operierte Tier scheinbar unbegrenzt lange in Rückenlage leben kann.

Fischel[1] untersuchte die Regeneration der Linse bei Tritonlarven unter dem Einfluß raumbeengender Körper. Er brachte zu diesem Zweck nach Extraktion der Linse Kartoffelstückchen, Brotkügelchen oder Teile der Cornea eines anderen Tieres an die Stelle der extrahierten Linse und ließ die Körper hier einheilen.

Um den Kampf der Gewebe im Regenerat bei Begünstigung der Hautregeneration zu studieren, verfuhr Tornier[2] folgendermaßen:

Bei erwachsenen Exemplaren von Triton cristatus wurde der Schwanz 1 $^1/_2$ cm hinter dem After abgeschnitten. Am Hinterende des stehengebliebenen Schwanzrestes wurden dann Haut und Schwanzinhalt auf die Entfernung von etwa $^1/_2$ cm gegen den After hin vorsichtig voneinander losgelöst und der enthäutete Schwanzinhalt weggeschnitten, während seine von ihm losgelöste Hauthülle am Schwanzrest stehen blieb. Die freien Ränder der leeren Hautmanschette wurden durch zwei Nähte miteinander vereinigt.

Ferner gelang es Tornier die Wachstumswiderstände bei Regeneration zu untersuchen, indem er bei Larven von Pelobates fusc. den „Schwanzkern“ (d. h. Muskelsegmente und Chorda und Medulla spinalis) von der Schwanzspitze aus zwischen den stehenbleibenden Bortenpolstern gleichsam herausstanzte. Die stehenbleibenden Lappen der Bortenpolster legten sich von oben und unten aneinander und bildeten so den Widerstand bei der Regeneration des Schwanzkernes.

Um die Regeneration der Epithelien der Leber ohne Anregung des Bindegewebes zu studieren, schädigte Ribbert[3] das Organ

---

[1]) Fischel, A., Weitere Mitteilungen über die Regeneration der Linse (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XV, 1902, p. 1).

[2]) Tornier, G., Kampf der Gewebe im Regenerat bei Begünstigung der Hautregeneration (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXII, 1906, p. 348).

Derselbe: Kampf der Gewebe im Regenerat bei Mißverhalten des Unterhautbindegewebes (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXII, 1906).

[3]) Ribbert, H., Zur Regeneration der Leber und Niere (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XVIII, 1904, p. 267).

Siehe hierzu auch Fürst: Über die Veränderungen des Epithels durch leichte Wärme- und Kälteeinwirkungen beim Menschen und Säugetieren (Zieglers Beitr. z. path. Anat. Bd. XXIV, 1898).

durch Einspritzen von Alkohol und (besser noch) Äther in einen Pfortaderast.

Um in ähnlicher Weise die Epithelien der Niere bei Erhaltung der Stützsubstanz zu zerstören, wurde die Niere operativ auf den Rücken des Tieres vorgewälzt und die Oberfläche der Niere durch Ätherspray zum Gefrieren gebracht.

Reinke[1] untersuchte die degenerativen und regenerativen Vorgänge im Hirn von Salamanderlarven, die mehrere Tage hintereinander für mindestens $1^1/_2$ Stunden in 4prozentiger Ätherlösung (in Leitungswasser) gelegt und dann in fließendes Wasser gebracht wurden.

Driesch[2] untersuchte die Regenerationsfähigkeit des Skeletts durch die kalkbildenden Mesenchymzellen bei älteren und jüngeren Larven von Spaerechinus granularis. Er löste das gebildete Skelett dadurch auf, daß er einen Strom von CO_2 eine halbe Stunde lang durch das Gefäß, welches die Larven enthält, durchleitete und das Gefäß dann noch $1^1/_2$ bis 2 Stunden abgeschlossen hielt. Abgesehen von der Lösung des Skeletts nahmen die Larven hierdurch keinen Schaden. (Die Methode stammt von Herbst.)

Die Wirkung der Röntgen- und Radiumstrahlen auf die Regeneration ist von einer ganzen Reihe von Autoren untersucht worden. Das Technische bei diesen Versuchen weicht nicht wesentlich von den üblichen Bestrahlungsmethoden ab.

L. Technische Methoden für Transplantation.

Die Transplantation ist bei niederen Tieren erfolgreich zur Lösung wichtiger Probleme verwendet worden. Von früheren Autoren mit modernen Fragestellungen sind hier hauptsächlich Nussbaum und Wetzel zu nennen.

Im letzten Dezennium hat man sich folgender Methoden bedient: Rand[3] fand Hydra viridis trotz seiner geringeren Größe geeigneter für Transplantationsversuche als Hydra fusca. Seine Methode be-

---

[1]) Reinke, F., Die quantitative und qualitative Wirkung der Ätherlymphe auf das Wachstum des Gehirns der Salamanderlarve (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXIV, 1907, p. 239).

[2]) Driesch, H., Studien über das Regulationsvermögen der Organismen. 3. Notizen über die Auflösung und Wiederbildung des Skeletts von Echinidenlarven (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. IX, 1899, p. 137).

[3]) Rand, H. W., The regulation of graft abnormalities in Hydra (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. IX, 1899, p. 161).

stand darin, in eine dünne Lage weichen Paraffins (das in eine Schale ausgegossen war), Furchen zu graben, die zu den zu pfropfenden Stücken wie Gußformen paßten. — Die Teilstücke wurden in diesen Rinnen dicht aneinander gepaßt. In 10 Minuten war die Vereinigung erfolgt.

Für die Pfropfungsversuche an Hydra viridis verwendete King [1] fein ausgezogene Glasfäden, über welche die Teilstücke geschoben und in Berührung miteinander gebracht wurden. Nach dieser Manipulation wurde das vorschauende Glasende in den Boden einer Paraffinschale gesteckt und Wasser in die Schale gefüllt. In einer bis 2 Stunden sind die Teilstücke so weit miteinander verbunden, daß das Glasfädchen entfernt werden kann.

Hefferan [2] verfuhr zur Transplantation von Hydra in einfacher Weise: Die mit abgestumpftem Skalpell durchschnittenen Stücke wurden für einige Minuten mit Präpariernadeln unter Wasser aneinander gehalten; sie vereinigten sich so meist leicht und sicher.

Driesch [3] pfropfte junge Tubulariaanlagen mit recht engem Lumen auf eine weiter vorgeschrittene Anlage mit ziemlich weitem Lumen, so daß die junge Anlage in das Perisack der älteren hineingeschoben werden konnte.

Hargitt [4] schnitt für Pfropfversuche an Hydroiden die Hydranten ab, weil ihre Bewegungen stören. Die Schnittflächen der zu vereinigenden Stücke wurden nahe aneinander gebracht und durch Bleischnitzel in dieser Stellung gehalten, bis die Vereinigung fixiert war.

Godlewski [5] verfuhr auf folgende Weise:

Ein Stammstück von Tubularia von etwa 40 mm Länge wurde auf einen Objektträger gelegt und mit einem Glasstäbchen wie mit einer Walze gepreßt. Indem ein Druck auf die Walze ausgeübt wurde, wurde sie vom aboralen Ende oralwärts verschoben, wodurch das Cönosark aus dem

---

[1]) King, H. D., Observations and experiments of Regeneration in Hydra viridis (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XIII, 1901/1902, p. 135).

[2]) Hefferan, M., Experiments in grafting hydra (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XIII, 1901/1902, p. 565).

[3]) Driesch, H., Studien über das Regulationsvermögen der Organismen. 7. Zwei neue Regulationen bei Tubularia (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XIV, 1902, p. 532).

[4]) Hargitt, G. T., Regeneration in Hydromedusae (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XVII, 1904, p. 64).

[5]) Godlewski, E. jun., Zur Kenntnis der Regulationsvorgänge bei Tubularia mesembryanthemum (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XVIII, 1904, p. 111).

plattgedrückten Abschnitt in die Darmhöhle des oralwärts liegenden Stammstückes hineingepreßt wurde. Stellen wir uns jetzt vor, daß durch ähnliche Behandlung mit Hilfe der Walze von der oralen Stammstückhälfte das Cönosark vorher nach außen ausgepreßt worden war, so ist es jetzt leicht, das Cönosark der aboralen Hälfte in ein leeres Perisark der oralen Stammhälfte zu verlagern.

Rabes [1], wie vor ihm Joest [2], Rievel [3], Moran (1829 zit. nach Joest) pfropften Teilstücke von Lumbriciden aufeinander und vereinigte sie durch feine Seidenligaturen. Es ist für diese Operation notwendig, die Tiere in Chloroformwasser (gesättigt) zu betäuben, um nicht durch die Bewegungen der Stücke an der Arbeit verhindert zu werden.

Vor der mikroskopischen Untersuchung müssen die Tiere eine Zeitlang in feuchtem Fließpapier und darauf in feuchter Leinwand gehalten werden, damit sie den Darm durch das aufgenommene Fließpapier von Steinen reinigen.

Morgan [4] stellte Pfropfungsversuche mit Bipalium-Stücken an. Er legte zwei gewöhnliche Objektträger Seite an Seite mit nur kleinem Zwischenraum nebeneinander auf eine Glasplatte. In den schmalen Raum zwischen den Objektträgern kamen die zu pfropfenden Stücke zu liegen. Darüber ein dünnes Glasplättchen. Das Ganze wurde bedeckt von einer dunklen Glasglocke — im Lichte sind die Tiere zu unruhig. Unter die Glasglocke wurde ein nasser Schwamm gebracht.

Crampton [5] benutzte zu Verwachsungsversuchen Puppen der Schmetterlinge Philosamia cynthia, Samia cecropia, Callosamia promethea, Telea polyphemus, Actias luna.

Die Partner wurden mit den Wunden aneinander gelegt und der gemeinsame Wundrand mit Paraffin umgossen. Man muß darauf achten, daß keine Luftblase unter dem Paraffinschluß verbleibt, sonst gehen die Partner wieder aneinander.

---

[1]) Rabes, O., Transplantationsversuche an Lumbriciden (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XIII, 1901, p. 238).

[2]) Joest, E., Transplantationsversuche an Lumbriciden (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. V, 1897, p. 419).

[3]) Rievel, H., Die Regeneration des Vorderdarmes und Enddarmes bei einigen Anneliden (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXII, 1896).

[4]) Morgan, T. H., Regeneration in Bipaliam (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. IX, 1900, p. 563).

[5]) Crampton, H. E., An experimental study upon Lepidoptera (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. IX, 1899, p. 293).

Die Transplantation wurde als Methode entwicklungsmechanischer Forschung durch Born[1] zu besonderer Bedeutung erhoben. Es soll nur kurz auf seine wohl allgemein bekannten Verwachsungsversuche eingegangen werden.

Born brachte aus den Hüllen befreite Embryonen oder Embryonenteile von Rana mit aufeinander passenden Wundflächen mit Hilfe feiner Pinsel in physiologischer Kochsalzlösung dicht aneinander und hielt sie durch loses Anlegen von Silberdrahtstücken (0·4 bis 1·5 mm dick, 1 bis $1^1/_2$ cm lang) in dieser Stellung fest, bis die beiden Partner fest miteinander verklebt waren. Dicht neben die mit den Wundflächen aneinander gebrachten Larven kamen zwei Silberdrähte, deren Durchmesser etwas geringer war, als der Leib der Larven. Quer über diese und über die Larven hinweg wurden dann die fixierenden Drähte aufgelegt, so daß die ersten Drähte als Schienen dienten, welche die Larve vor zu starkem Drucke stützten. Für jeden besonderen Fall mußten besondere Modifikationen dieses Prinzips angewendet werden. Die Drähte blieben 6 bis 8 Stunden, eventuell bis zum anderen Tag liegen.

Mit derselben Methodik hat dann Harrison[2] eine Reihe ergebnisreicher Untersuchungen angestellt.

Braus[3] und nach ihm Banchi[4], Lewis[5], Streeter[6] gingen noch

---

1) Born, G., Über Verwachsungversuche mit Amphibienlarven (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. IV, 1896, p. 349).

2) Harrison, R. G., Experimentelle Untersuchung über die Entwicklung der Seitenlinie bei den Amphibien (Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXIII, 1903, p. 35).

Derselbe: Experiments in transplanting limbs and their bearing upon the problems of the development of nerves (Journ. of exp. Zool. Bd. IV, 1907, p. 239).

3) Braus, H., Versuch einer experimentellen Morphologie (Verh. Naturh. med. Ver. Heidelberg 1903).

Derselbe: Einige Ergebnisse der Transplantation von Organanlagen bei Bombinatorlarven (Verh. d. anat. Ges. Jena 1904; Erg.-H. z. Bd. XXV d. Anat. Anz., p. 53).

Derselbe: Experimentelle Beiträge zur Frage nach der Entwicklung peripherer Nerven (Anat. Anz. Rd. XXVI, 1905, p. 433).

4) Banchi, A., Sviluppo degli arti addominali del „Bufo vulgaris" innestati in sede anomala (Acc. med. fis. Fiorentina 1904; zit. nach Braus).

5) Lewis, W. H, Experimental studies on the development of the eye in Amphibia (Amer. Journ. of Anat. vol. III). [War mir nicht zugänglich.]

6) Streeter, G. L., Some factors in the development of the Amphibian ear vesicle and further experiments on equilibration (Journ. of exp. Zool. vol. IV, 1907, p. 431).

Derselbe: Some experiments on the developing ear vesicle of the tadpole with relation to equilibration (Journ. of exp. Zool. vol. III, 1906, p. 543).

einen Schritt weiter und verpflanzten winzig kleine Organanlagen von ihrer Ursprungsstelle auf eine Wundfläche an einer beliebigen anderen Stelle des Körpers, so Extremitätenknospen, Augenanlagen, Hörbläschen, ein Verfahren, das sehr wichtige Fragen in glänzender Weise ihrer Lösung näher brachte.

Einen wichtigen Fortschritt in der Technik der Transplantation bedeuten neuere Angaben von Spemann [1], weil sie gestatten, an sehr jungen, weichen Keimen mit großer Exaktheit zu arbeiten. Spemann benutzt für seine Versuche die feinen Glasnadeln, deren Herstellung schon oben beschrieben wurde.

Die Keime von Triton taen., Rana, Bombinator werden zunächst aus ihren Hüllen befreit und in eine flache Glasschale gebracht, deren Boden mit reinem, weißem Wachs ausgegossen ist. In die Wachsschicht bohrt man eine kleine Grube von entsprechender Form und Größe, z. B. mit einem Stecknadelknopf, und bringt den Keim in geeigneter Stellung hier hinein. Um den Keim während der Operation zu fixieren, macht man sich eine Schlinge aus einem feinen Haar (oder Glasfaden), deren freie Enden in einer Glaskapillare (als Handgriff) mit erhitztem Wachs befestigt werden. Man sticht nun unter der Binokularlupe die Glasnadel am einen Ende des beabsichtigten Schnittes ein, am anderen Ende wieder aus, wie beim Nähen, hebt sie ein wenig, daß der Keim an ihr hängt und läßt sie durch Gegendruck mit der Haarschlinge durch das weiche Gewebe durchschneiden. In derselben Weise erfolgten weitere Schnitte, bis der ins Auge gefaßte Teil herausgehoben und (in veränderter Orientierung) an dieselbe Stelle oder in eine passend hergerichtete andere verpflanzt werden kann. Nach der Verpflanzung muß das transplantierte Stück kurze Zeit fixiert werden, und zwar durch Anlegen von knieförmig gebogenen dünnen Glasstäbchen, eventuell mit angeschmolzenem Knopf, oder von Deckglasstreifen, die mit Knöpfchen versehen und auf dem erhitzten Blech leicht gebogen werden.

Die Transplantationen embryonaler Gewebe und Organe bei Säugetieren haben in den letzten 10 Jahren technisch kaum etwas Neues gebracht. Kurz sei nur einer Methode von Leo Loeb [2] gedacht, der embryonale Gewebe (Ohr von Meerschw. Embr.) in koaguiiertes Blutserum oder Agar einschloß und so transplantierte. Er gewann hübsche Ergebnisse über das Wachstum des Epithels.

---

[1]) Spemann, H., Über eine neue Methode der embryonalen Transplantation (Verhandl. d. deutsch. zool. Gesellsch. 1906, p. 195).

[2]) Loeb, L., Über das Wachstum des Epithels (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XIII, 1902, p. 487).

M. Technische Methoden zur Untersuchung funktioneller und anderer Korrelationen.

Es sei von älteren Arbeiten kurz auf die Methoden von Roux[1] hingewiesen, die formende und richtende Wirkung bestimmter mechanischer Beanspruchung an zweckmäßig präparierten Materialien darzustellen, so für die Ermittelung der modellierenden Wirkung des in verzweigten Röhren fließenden Stromes durch künstliche mit weicher Masse zwischen zwei Glasplatten hergestellten Kanälen, in welche ein Wasserstrom getrieben wurde; ferner[2] für die mechanische Selbstdarstellung der Druck-, Zug- und Abscherungstrajektorien[3] mittels dünnen auf die Oberfläche von Gummimodellen aufgetragenen Schichten von Paraffin und Stearinsäure, die bei der mechanischen Beanspruchung des Gummimodelles in bestimmten Beanspruchungsrichtungen Sprünge bekommen.

Ribbert[4] untersuchte mit einer eigenartigen Methode die Anpassung des Knorpels an mechanische Beanspruchung.

An dem kopfwärts gelegenen Teil des Ohres bei Kaninchen wurde ein 1 bis 2 cm langer querer perforierender Schnitt, also ein knopflochartiger Schlitz angelegt und dann etwa 2 cm vom Ende des Ohres entfernt beiderseits ein querer Einschnitt gemacht, so daß nur eine 1 bis 2 cm breite Brücke stehen blieb. An dem peripher von ihr liegenden Ohrabschnitt konnten die nun flügelartig gestalteten Ränder nach der Mitte zu umgelegt und dann, indem das Ohr nach innen umgeklappt wurde, durch jenen Schlitz hindurchgeschoben werden.

Dann wurden die Flügel wieder ausgebreitet und der durchgeschobene Teil durch Naht fixiert. Auf diese Weise gelang es die Ohrmuschel in der Zwangslage zu halten, um den Knorpel nach einiger Zeit auf seine durch Zug und Druck entstandenen Veränderungen zu untersuchen.

---

[1]) Roux, W., Über die Verzweigung der Blutgefäße des Menschen (Jen. Zeitschr. Bd. XII, 1878, Ges. Abh. I, 1895, p. 61, Anmerk.).

[2]) Roux, W., Beiträge zur Morphologie der funktionellen Anpassung. III. Beschreibung und Erläuterung einer knöcherner Kniegelenksankylose (Arch. f. Anat. u. Phys., Anat. Abt., 1885, Ges. Abh. I, 1895, p. 673).

[3]) Siehe hierzu das schöne Buch von H. Triepel: Die trajektoriellen Strukturen, Wiesbaden 1908, III. Teil der Einführung in die physikalische Anatomie — und die ergebnisreichen Untersuchungen von W. Gebhardt: Über funktionell wichtige Anordnungsweisen der gröberen und feineren Bauelemente des Wirbeltierknochens I. (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XI, 1901, p. 383); II. (ibid. Bd. XX, 1905, p. 187). Auf welche Art der Beanspruchung reagiert der Knochen jeweils mit der Ausbildung einer entsprechenden Architektur? (ibid. Bd. XVI, 1903, p. 377).

[4]) Ribbert, H., Anpassungsvorgänge am Knorpel (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XX, 1906, p. 125).

Zur Untersuchung der funktionellen Anpassung von Knochen und Knorpel verkrümmte MATSUOKA [1] die Schwanzwirbelsäule des Kaninchens, die Konkavität ventralwärts gerichtet, erzeugte also eine Kyphose und fixierte das letzte Ende des Schwanzes durch einen starken Faden an den Weichteilen der Schwanzwurzel.

Um an dem jungen Granulationsgewebe zwischen den Stümpfen der durchschnittenen Achillessehne bei Kaninchen einen quer gerichteten Zug auszuüben, verfuhr LEVY [2] folgendermaßen:

Zwischen die Sehnenstümpfe wurde das eine Ende eines Seidenfadens eingelegt, das andere Ende durch die Haut nach außen geführt und dieses an einen kleinen Apparat angebracht, der an das Bein mit Gipsbinde befestigt wurde. Der Apparat bestand aus einer länglichen Metallplatte mit einem Loch (zum Durchführen des Fadens) und mit einem auf ihr liegend angebrachten drehbaren Stift, an welchem der Faden angeknüpft wurde. Durch eine kleine Drehung des Stiftes wickelte sich der Faden an ihm auf, so daß in einem beliebigen Zeitpunkt der schlaff eingeheilte Faden angespannt werden konnte.

BABÁK [3] untersuchte die Faktoren, die das Wachstum des Darmrohres bei Froschlarven bestimmen, mit Fütterungsversuchen.

Die Versuchsaquarien müssen unter ganz gleichen Bedingungen gehalten werden bezüglich ihrer Größe, ihres Wasseraustausches, der Temperatur der Umgebung. Die Messungen des Darmrohres geschehen am besten in frischem Zustand, da konserviertes Material, wenn es auch nicht schrumpft, doch sehr zerreißlich ist. Die Tiere werden nur für einige Minuten in Formalin getaucht, um die störenden Bewegungen zu verhindern. Der Darm muß für die Messung ohne jede Spannung bis zur Bildung eines Dreiecks oder Vierecks in einer mit Paraffin ausgegossenen Schale aufgerollt werden.

Die Fleischfütterung wurde mit frischem, zerriebenem Frosch-, Fisch-, Krebs- und Muschelfleisch, auch mit Pferdefleisch durchgeführt, die Pflanzenfütterung mit Stellaria media.

Für die analytischen Versuche über die mechanische Wirkungsweise der Nahrung wurde angewandt a) ein Stück Froschfleisch mit vielfachem Volumen von chemisch reinen Cellulosefasern; b) ein Stück Froschfleisch mit 2- bis 4fachen Volumen Glaspulver gründlich verrieben; c) Keratin

[1]) MATSUOKA, M., Über Gewebsveränderungen der künstlich erzeugten Kyphose der Schwanzwirbelsäule des Kaninchens (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XVIII, 1904, p. 253).

[2]) LEVY, O., Über den Einfluß von Zug auf die Bildung faserigen Bindegewebes (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XVIII, 1904, p. 184).

Siehe auch J. KANEKO: Künstliche Erzeugung von Margines falciformes und Arcus tendinei (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XVIII, 1904, p. 317).

[3]) BABÁK, E., Experimentelle Untersuchungen über die Variabilität der Verdauungsröhre (Arch. f. Ent.-Mech. Bd. XXI, 1906, p. 611).

(Präparat von Grübler) 2 bis 3 Volumteile auf ein Stück Froschfleisch, gründlich zerrieben, dann etwas ausgetrocknet, um den Zusammenhalt des Nahrungsballens zu garantieren.

Für die analytischen Versuche über die chemische Wirkungsweise der Nahrung wurde das künstlich dargestellte Präparatgemisch „Pflanzenproteïnsubstanz" mit einem kleinen Zusatz von Froschfleisch, ferner die reinen Präparate Vitellin, Legumin, Conglutin und einige andere, die aber mehr weniger giftig wirkten, verwendet.

Für Versuche über die chemische Wirkungsweise von Mineralsalzen wurde Calciumphosphat, Calciumnitrat, Calciumsulfat und Calciumoxalat ungefähr zu gleichen Teilen mit Stückchen Fleisch gemischt.

In ähnlicher Weise untersuchte Schepelmann[1] die gestaltende Wirkung verschiedener Ernährung auf die Organe der Gans.

---

[1]) Schepelmann, E., Über die gestaltende Wirkung verschiedener Ernährung auf die Organe der Gans, insbesondere über die funktionelle Anpassung an die Nahrung (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXI, 1906, p. 500).

[Eingegangen am 4. November 1909.]

Referate.

1. Lehr- und Handbücher.

Schönichen-Kalberlah, B. Eyferths Einfachste Lebensformen des Tier- und Pflanzenreichs. Naturgeschichte der mikroskopischen Süßwasserbewohner (vierte, vielfach verbesserte und erweiterte Auflage von W. Schönichen. Mit über 700 Abbild. auf 16 Tfln. in Lichtdruck nach Zeichnungen von A. Kalberlah, zahlreichen Abbild. im Text und 2 Porträts, VIII und 584 pp. Braunschweig [B. Göritz] 1909).

Die neue Auflage erscheint in wesentlich veränderter Gestalt: mehrere Kapitel, z. B. die der Flagellaten, haben eine Umarbeitung erfahren. Hier und da sind Textabbildungen zu den von der letzten Auflage her bekannten Tafeln hinzugekommen. Der Charakter des Buches, die Ziele, die es sich steckt und auch erreicht hat, sind dieselben wie bei der dritten Auflage.

Die Einleitung, die der Behandlung der einzelnen Tier- und Pflanzengruppen vorausgeschickt wird, enthält neben anderem auch Mitteilungen technischen Inhalts. *Küster (Kiel).*

2. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

A. Niedere Tiere.

Rühlemann, H., Über die Fächerorgane, sogenannte Malleoli oder Raquettes coxales, des vierten Beinpaares der Solpugiden (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCI, 1908, p. 599—639 m. 8 Figg. u. 2 Tfln.).

Zur Untersuchung lag nur in 35prozentigem Alkohol konserviertes Museummaterial vor. Das Erweichen des Chitins mit Salpetersäure (1 Teil Säure auf 10 Teile 70prozentigem Alkohol) wurde schließlich aufgegeben, da öfters Beschädigung der inneren Teile dadurch hervorgebracht wurde. Rasches Durchführen der Organe durch die verschiedenen Alkohole, Chloroform und Paraffin erwies sich für die Schneidfähigkeit günstig. Zur Färbung der Totalpräparate war Boraxkarmin nur wenig geeignet, besser salzsaures Karmin, bei einer Einwirkung von 24 bis 48 Stunden im Wärmeschrank bei 56° C. Hierbei ist Vorsicht geboten, da die Färbung leicht zu intensiv wird. Von einer Vorfärbung des zu schneidenden Materials wurde nach einigen wenig befriedigenden Versuchen schließlich abgesehen. Die beste Schnittfärbung ergab die Methode nach VAN GIESON-WEIGERT (vgl. diese Zeitschr. Bd. XXI, p. 1) bei einer Nachfärbung mit BLOCHMANNscher Flüssigkeit. Im allgemeinen fielen die Färbungen recht ungleichmäßig aus. *E. Schoebel (Neapel).*

Freiling, H. H., Duftorgane der weiblichen Schmetterlinge nebst Beiträgen zur Kenntnis der Sinnesorgane auf dem Schmetterlingsflügel und der Duftpinsel der Männchen von Danais und Euploea (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCII, 1909, p. 210—290 m. 17 Figg. u. 6 Tfln.).

Heißer 80prozentiger Alkohol fixiert, speziell was das feinere Detail betrifft, ungenügend, wesentlich bessere Resultate gibt ein auf 40 bis 50° C erwärmtes Gemisch von Formol, Alkohol und Essigsäure (30 Teile Wasser, 15 Teile 96prozentigen Alkohol, 6 Teile Formol, 1 Teil Essigsäure) und die starke FLEMMINGsche Chrom-Osmium-Essigsäure. Letztere ist, wenn auch mit einigen Schwierigkeiten anzuwenden, besonders für Drüsenkanäle und Nervenendigungen unschätzbar, jedenfalls darf man, um die besten Resultate zu erhalten, nur ganz kleine Stücke in das Fixierungsgemisch einlegen. Zur Untersuchung der Duftorgane auf den Flügeln wurde zunächst immer der Flügel in toto gefärbt, meist mit Para- oder Boraxkarmin, wobei man zuweilen genügend instruktive Bilder für das histologische Studium erhält. Distinktere Färbung erzielt man zuweilen mit HEIDENHAINS Eisenhämatoxylin; leider ist, infolge der schlechten Durchdringbarkeit der Flügelchitinlamellen für nicht alkoholische Flüssigkeiten, diese Färbung langwierig und nicht immer von dem gewünschten Erfolge begleitet. Bei der histologischen Untersuchung von Flügel-

rippen ist man infolge der dicken und undurchsichtigen Chitinschichten auch darauf angewiesen, die Schnittmethode zu Hilfe zu nehmen, wenn sie auch oft nur unvollkommene Resultate gibt. Für die Duftorgane am Abdomen mußte die Schnittmethode fast ausschließlich zur Anwendung kommen. Photoxylinüberzug beim Schneiden ist fast unerläßlich. Zum Färben der Schnitte kam für Übersichtsbilder Ehrlichs Hämatoxylin und für feinere histologische Strukturen Heidenhains Eisenhämatoxylin zur Verwendung. *E. Schoebel (Neapel).*

Gariaeff, W., Zur Histologie des zentralen Nervensystems der Cephalopoden. 1. Subösophagealganglionmasse von Octopus vulgaris (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCII, 1909, p. 149—186 m. 2 Tfln.).

Für die allgemeine Untersuchung der Ganglienmasse wurde Fixierung mit Sublimat und mit den Gemischen von Flemming, Hermann und Rabl versucht. Sublimat und Rabls Gemisch eignen sich wegen der durch sie hervorgerufenen Schrumpfungen nicht. Die besten Resultate lieferte die Hermannsche Flüssigkeit trotz der stark beeinträchtigten Färbbarkeit der Gewebe. Eisenhämatoxylin ergab übrigens immer vollständig genügende Färbungen. Für die Untersuchung der Fibrillenstrukturen kamen außerdem die verschiedenen spezifischen Methoden zur Anwendung. Die von Nabias, Bethe und Apáthy gaben keine Resultate, sehr gute dagegen die von Ramón y Cajal, wenn das Objekt während der Silbernitratbehandlung der Einwirkung von Radium ausgesetzt wurde. Die Bielschowskysche Methode mußte dahin modifiziert werden, daß als Reduktionsflüssigkeit eine 10prozentige Traubenzuckerlösung verwandt wurde, da Formol-Reduktion starke Schrumpfungen und Zerreißungen des zarten Gewebes bedingte. Auch die von Maresch angegebene Modifikation der Bielschowskyschen Methode lieferte gute Präparate. Die Methode von Wolff hat den Vorzug, daß sie die Bearbeitung ganzer Serien ermöglicht; die Resultate stehen aber dann der Methode von Bielschowsky entschieden nach. Äußerst zarte Fibrillenbilder gab die Methode von Joris, wobei übrigens gleichzeitig auch die Nissl-Körperchen gut zur Darstellung gebracht wurden. *E. Schoebel (Neapel).*

Martini, E., Studien über die Konstanz histologischer Elemente. 1. Oikopleura longicauda (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCII, 1909, p. 563—626 m. 22 Figg. u. 3 Tfln.).

Die besten Totalpräparate wurden von Formolmaterial bei Färbung mit Pikrokarmin oder Hämalaun erhalten. Das Material für Schnitte wurde mit Hermannscher oder vom Rathscher Flüssigkeit, ferner auch mit Sublimat, Pikrinsublimateisessig oder Formol fixiert. Außer letzterem gaben alle genannten Fixierungsmittel gute Resultate. Die mit Osmium enthaltenden Lösungen fixierten Objekte wurden teils mit oder ohne Holzessignachbehandlung ungefärbt untersucht, teils mit Safranin, Hämalaun oder Ehrlichschem Hämatoxylin gefärbt. Das übrige Material wurde mit Hämalaun oder Alaunkarmin gefärbt. Auch Chlorgold-Ameisensäurebehandlung gab gute Bilder. Neben dünnen Schnitten sind dicke für das richtige Verständnis sehr zu empfehlen, wenn nicht unbedingt notwendig. Mazerationspräparate, die natürlich am vollkommensten das Studium unterstützen würden, gelang es Verf. nicht in geeigneter Weise herzustellen.

E. Schoebel (Neapel).

B. Wirbeltiere.

Merkel, Fr., Betrachtungen über die Entwicklung des Bindegewebes (Anat. Hefte, H. 115 [Bd. XXXVIII, H. 2], 1909, p. 323—392 m. 6 Tfln.).

Fixierung meist in Zenkerscher oder Müllerscher Flüssigkeit; ein Zusatz von Formol zu letzterer schadet nichts, Formol allein aber verändert die Struktur des jungen Bindegewebes an vielen Stellen durch starke Quellung so sehr, daß damit behandelte Stücke unbrauchbar sind. Auch nicht jede Chromverbindung ist zu empfehlen, so ergab Lithion bichromicum ganz unbefriedigende Resultate. Einbettung vielfach in Celloïdin, da Paraffin durch die unvermeidliche Schrumpfung die überaus zarten Strukturen der jüngsten Stadien so sehr angreift, daß man nicht immer sicher ist, ob nicht Täuschungen vorliegen. Leider ist aber trotz ihrer Mängel die Paraffinbehandlung oft genug nicht zu umgehen. Zuweilen mußte man auch ohne alle Einbettung zu feinen Rasiermesserschnitten seine Zuflucht nehmen, um jeden Zweifel zu zerstreuen. Es wurden die verschiedensten Färbungen probiert; die folgenden erwiesen sich als die besten. Zunächst die von van Gieson, Hansen u. a. empfohlenen sauren roten Farbstoffe in Verbindung mit Pikrinsäure, wobei es ziemlich gleichgültig ist, welchen derselben man wählt; ebenso wie Säurefuchsin

wirkt Ponceau, Rotviolett, Säuregrenat. Verf. benutzte fast nur das letztere, seiner sehr bequemen Anwendungsweise wegen und wegen der angenehmen Färbung der Zellen, welche nicht strohgelb werden, sondern einen mehr bräunlichen Ton annehmen, der die Untersuchung sehr erleichtert. Eine Lösung von 1 cc S. Grenat aus der Badischen Anilin- und Sodafabrik (in den achtziger Jahren bezogen) in 200 cc destillierten Wassers hält man sich gegen Licht geschützt vorrätig, ebenso eine gesättigte wässerige Lösung von Pikrinsäure. Unmittelbar vor dem Gebrauche mischt man sie zu gleichen Teilen. Der zu färbende Schnitt bleibt in der Flüssigkeit nur etwa eine Minute und wird dann am besten direkt in Alkohol übertragen: in Celloïdin eingebettete Schnitte in 96prozentigen, aus Paraffin stammende in absoluten. Aus dem Alkohol kommen nach der Entwässerung erstere in Origanumöl, letztere in Xylol, dann werden sie in Balsam eingeschlossen. Besonders gute Resultate ergab eine Kombination der eben beschriebenen Färbung mit der durch Eisenhämatoxylin. Die Färbung mit dieser letzteren Methode kann sehr abgekürzt werden: man läßt die Schnitte in der Beize wie in der Farbe nur etwa eine halbe Stunde liegen, differenziert ganz kurze Zeit, bis sich in der Flüssigkeit die erste Farbstoffwolke zeigt und überträgt nach kurzem Waschen in die Pikrogrenatlösung. In ihr wird während der Rotfärbung die schwarze Farbe noch weiter ausgezogen, wobei man dafür sorgen muß, den richtigen Färbungsgrad nicht vorübergehen zu lassen. Dann überträgt man in Alkohol usw. Sind die Präparate gelungen, so leistet die kombinierte Färbung für viele Feststellungen erheblich mehr, als jede einzelne von ihnen. Auch hält sich die so gerne verbleichende Rotfärbung weit besser, als wenn sie allein angewandt wird. Daß diese Färbung für Bindegewebe nicht ganz spezifisch ist, hat schon Hansen hervorgehoben. Es war dies dem Verf. sogar erwünscht, da er außer den fertigen kollagenen Gebilden auch die präkollagenen gefärbt zu erhalten wünschte. Eine Färbung mit Naphtolschwarz L 115 leistete für viele Zwecke ebenfalls sehr gute Dienste. Verf. wandte es besonders gerne zur Darstellung der Basalmembranen an, welche durch sie überaus scharf hervortreten. Auch für die Darstellung der Zellen leistet sie mehr als Pikrogrenat. Eine einprozentige Lösung von Naphtolschwarz, eine kaltgesättigte Lösung von Orange G und eine ebensolche von Pikrinsäure werden in Vorrat gehalten; zum Gebrauche mischt man die Lösungen von Naphtolschwarz und Pikrinsäure zu gleichen Teilen und gibt auf ein Uhrschälchen davon 2 bis 3 Tropfen der Orange-

lösung. In dieser Mischung verbleiben die Schnitte etwa 10 Minuten, dann ganz kurzes Abspülen in Wasser und Übertragen in 96prozentigen oder absoluten Alkohol. In diesem bleiben sie nur so lange, bis sie sicher entwässert sind, da der Alkohol das Orange stark auszieht, man überträgt dann in Origanumöl oder Xylol und schließlich in Balsam. Für die Färbung von Gallerte und von manchen Membranbildungen ist am besten die Methode von Mallory, bei welcher, nach Mall, der Gehalt an Anilinblau verdoppelt wurde. Es wurde bei dieser Methode oft auf Anwendung der Rotfärbung verzichtet und nur die blaue Flüssigkeit benutzt, welche durch ihre sehr große Färbekraft manches hervortreten läßt, was mit den anderen Methoden nicht in gleicher Klarheit hervortrat. Eine Färbung mit den von Heidenhain für Bindegewebe empfohlenen Chromotropen ist nach Verf. umständlich und leistete nicht mehr als die eben beschriebenen Methoden. *Schiefferdecker (Bonn).*

Nowikoff, M., Untersuchungen über die Struktur des Knochens (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCII, 1909, p. 1—50 m. 1 Fig. u. 4 Tfln.).

Die Untersuchung wurde mit den verschiedensten in Frage kommenden Methoden ausgeführt. Vor allem kamen Schliffe durch den getrockneten Knochen (Femur und Fibula des Menschen) in Betracht. Das Schleifen erfolgte gewöhnlich zuerst mittels feiner Feilen, weiter auf einem weißen Schleifstein und schließlich behufs Politur auf einer matten Glasplatte. Von der Zuhilfenahme eines Schleifpulvers wurde abgesehen, weil es sehr schwer hält, dasselbe wieder vollständig aus dem Präparate zu entfernen. Meist wurde mit Olivenöl geschliffen, und Verf. findet, daß auf diese Weise dünnere und weniger beschädigte Schliffe herzustellen sind, als beim Schleifen mit Wasser. Der fertige, beiderseits polierte Schliff wird am besten in Xylol ausgewaschen und dann entweder direkt in verdünnten Kanadabalsam übertragen oder zuerst im Wärmeschrank, bzw. unter der Luftpumpe gut ausgetrocknet und dann in geschmolzenen Kanadabalsam eingeschlossen. Da das Färben der Knochenschliffe bekanntlich nur sehr unvollkommen gelingt, wurden zur besseren Darstellung der Struktur Imprägnationen der Knochenkanälchen hergestellt. Zu diesem Zwecke schleift man eine dünne Knochenplatte von einer Seite an und legt sie für einige Tage im Dunkeln in schwache, etwa einprozentige Silbernitratlösung. Dann wird die Platte ausgewaschen, dem Lichte ausgesetzt und getrocknet, wobei sie schwarz wird. Die angeschliffene Seite wird dann

etwas poliert und die Platte hierauf mit dieser Seite mittels Kanadabalsams auf einen Objektträger aufgekittet, worauf sie endlich möglichst dünn geschliffen wird. Gute Präparate bekommt man auch durch Ausfüllen der Knochenhöhlen und der verzweigten Knochenkanälchen mit Farbstoffen. Man legt z. B. die Knochenplättchen 2 bis 3 Tage bei gewöhnlicher Temperatur in eine $^1/_2$prozentige alkoholische Lösung von Säurefuchsin, bringt dann das geschlossene Gefäß mit den Knochenplättchen in der Farblösung für etwa 24 Stunden in einen Wärmeschrank von 40° C und schließlich in einen solchen von 55° C. In letzterem wird das Gefäß geöffnet, damit die Flüssigkeit vollständig verdunsten kann. Die ausgetrockneten Knochenplättchen sind dunkelrot, stellenweise metallglänzend. Da die Farbe nur unvollkommen eindringt, verfährt man am besten so, daß man zunächst eine Fläche der Platte schleift, und zwar nur so weit, bis der äußere Farbniederschlag entfernt ist. Mit dieser Seite wird dann die Platte auf das Schleifglas aufgekittet und endgültig geschliffen. Das Schleifen muß trocken oder in Olivenöl ausgeführt werden, da Wasser die Farbe löst. Die Untersuchung kann in Öl oder Kanadabalsam erfolgen. Für die Untersuchung der Struktur der Grundsubstanz erweisen sich solche Schliffe am geeignetsten, in welchen beim Einschließen in geschmolzenen Kanadabalsam die meisten Knochenkanälchen vom Balsam erfüllt werden; die feinsten Hohlräume der Grundsubstanz aber noch Gas enthalten. Die Herstellung eines solchen Präparates hängt sehr vom Zufall ab, man kann aber dafür empfehlen, den Schliff vor dem Einschließen in den Balsam bis auf etwa 100° C zu erhitzen. Für die Untersuchung des geglühten Knochens kann man entweder fertige Schliffe oder etwa 1 mm dicke Knochenplättchen mittels einer Bunsenflamme auf einem Platinblech ausglühen. Im ersteren Falle nimmt der Knochen innerhalb weniger Minuten eine rein weiße Farbe an, im zweiten erfordert der Prozeß etwa 45 bis 60 Minuten. Aus den dickeren ausgeglühten Platten lassen sich dann bei vorsichtigem Manipulieren ebenso feine Schliffe anfertigen, wie aus ungeglühten Knochen. Solche Schliffe sind zum Studium viel geeigneter als die nachher ausgeglühten, da sie nicht gefaltet sind wie die letzteren. Neben der Untersuchung intakter Schliffe empfiehlt sich auch die kleinster Fragmente, wie man sie auch durch Zerreiben geglühter Knochenstücken in einer Reibschale erhält; man untersucht sie in Wasser, Kanadabalsam oder am besten in Olivenöl. — Weiter kamen Schnitte durch entkalkte Knochen zur Untersuchung. Feine Knochenplatten wurden in einer einprozentigen Lösung von Salzsäure

in 70prozentigem Alkohol 8 bis 10 Tage behandelt und dabei die Flüssigkeit jeden Tag oder doch wenigstens alle 2 Tage gewechselt. Die Schnitte durch entkalkte Knochen sind ohne Vorbereitung zum Studium der feineren Strukturen nur selten geeignet. Die Struktur der Grundsubstanz wird jedoch ganz deutlich, wenn man einen dickeren Schnitt in ähnlicher Weise wie einen Schliff behandelt, d. h. zuerst nach der Überführung in absoluten Alkohol und Xylol rasch austrocknet (im Wärmeschrank oder im Vacuum) und ihn hierauf in geschmolzenen Kanadabalsam einschließt. Ein anderes Mittel zum Deutlichmachen der Struktur entkalkter Knochenschnitte besteht darin, daß man sie quellen läßt. Dies erreicht man durch etwa $1^1/_2$stündiges Erwärmen des dicken (20 bis 30 μ) vom Celloïdin befreiten Schnittes in destilliertem Wasser von 100°. Noch bessere Resultate erhält man jedoch durch 5 Minuten langes Erhitzen der Schnitte auf dem Wasserbade in 35prozentiger Essigsäure. Eingeschlossen werden solche Schnitte am besten in Glyzerin. Weiter kamen noch Bruchstücke der organischen Knochensubstanz zur Untersuchung, wie man sie durch vorsichtiges Abschaben von einem entkalkten, mit Eisenhämatoxylin oder Blochmannschem Gemisch (0·01prozentige Lösung von triphenylrosanilintrisulfosaurem Natrium in gesättigter wässeriger Pikrinsäurelösung) gefärbten Knochenstücke erhält. — Für das Studium der Histogenese des Knochens kam Femur, Fibia und Fibula junger Mäuse zur Verwendung. Die abgeschnittenen Extremitäten chloroformierter Tiere wurden von der Haut befreit und dann in konzentrierter wässeriger Sublimatlösung, in Hermannscher Flüssigkeit oder in 96prozentigem Alkohol fixiert. Die Zerlegung solchen Materials in dünne Schnitte (5 μ) gelingt ohne Schwierigkeit nach Einbettung in Paraffin. Zum Färben der Schnittserien leisteten das Blochmannsche Gemisch und die Methoden von Mallory und Hansen gute Dienste.

E. Schoebel (Neapel).

Hendricks, K., Zur Kenntnis des gröberen und feineren Baues des Reusenapparates an den Kiemenbögen von Selache maxima Cuvier (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCI, 1908, p. 427—509 m. 5 Figg. u. 2 Tfln.).

Die für das Mikrotomieren notwendige Entkalkung wurde meist mit etwa 6prozentiger wässeriger Lösung schwefliger Säure ausgeführt. Nach einer 2- bis 3tägigen Behandlung damit war fast immer eine vollständige Entkalkung erzielt. Aus der Säure kamen die Stücke 6 bis 8 Stunden in fließendes Wasser, dann 2 Stunden in destilliertes,

um dann mit Alkohol steigender Konzentration behandelt zu werden. Diese Methode gibt bei vorsichtiger Ausführung ausgezeichnete Resultate, Schrumpfung des Gewebes tritt nicht ein. Weniger geeignet für die gegebenen Untersuchungsobjekte erwies sich 8prozentige Salpetersäure, meist zeigte sich bei ihrer Verwendung Quellung und auch Verlagerung von Gewebsteilen. Gut, aber langsamer als schweflige Säure, wirkt auch eine alkoholische Kochsalz-Salzsäure-Mischung: Salzsäure 2·5, Alkohol 500, Wasser 100, Chlornatrium 2·5. [Das vom Verf. über diese Methode Angegebene verdient als abschreckendes Beispiel wörtlich zitiert zu werden: „Die Komponenten der Flüssigkeit wurden nach folgenden Gewichtsteilen zusammengestellt: Chlornatrium 25 cc; Aq. dest. 100 cc; 96prozentiger Alkohol 500 cc und konzentrierte Salzsäure 2·5 cc. Aus diesen Bestandteilen wurde eine kalt gesättigte Lösung hergestellt.“ Ref.] Für die Paraffineinbettung kamen die entkalkten Stücke 24 bis 36 Stunden in absoluten Alkohol, dann 2 bis 3 Stunden in Chloroform, weiter etwa 3 Stunden in geschmolzenes Paraffin vom Schmelzpunkt 40° C und schließlich zur definitiven Einbettung in Paraffin vom Schmelzpunkt 58° C. Die Schnitte wurden nach der Eiweiß-Glyzerin-Wassermethode aufgeklebt und dann gefärbt. Nach Salpetersäure- oder Salzsäure-Entkalkung war eine befriedigend intensive Färbung kaum zu erhalten, leichter nach Entkalkung mit schwefliger Säure; immerhin mußte auch hierbei die Färbedauer meistens über 24 Stunden ausgedehnt werden. In der Regel kam verdünntes Delafields Hämatoxylin kombiniert mit wässerigem Eosin zur Verwendung. Gleich gute Färbung gab auch verdünntes Hämalaun (1:20). Als zweite Farbe eignete sich auch recht gut das van Giesonsche Pikrinsäure-Säurefuchsin-Gemisch. Man erhält dann das Dentin dunkelrot, das Protoplasma der Pulpazellen und die Muskulatur der Schleimhaut gelb, die Kerne braun und das Bindegewebe in den Papillen hellrot. Zum Nachweis elastischer Fasern diente Orceïn und besonders das Weigertsche Fuchsingemisch. *E. Schoebel (Neapel).*

Axhausen, G., Über die bei der Luft- und Gasfüllung des Knochengewebes auftretenden Phänomene und ihre Deutung, insbesondere über die sogenannten „Gitterfiguren“ (Virchows Arch. Bd. CXCIV, 1908, H. 3, p. 371—438 m. 1 Tfl.).

Verf. fand, daß die Gitterfiguren sich nicht nur an kalkhaltigen, sondern auch an entkalkten Knochen darstellen lassen. Er bespricht

eine Anzahl von Methoden und die Befunde bei denselben, es läßt sich das schlecht referieren und es wird daher auf das Original verwiesen. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Golodetz, L., u. Unna, P. G., Zur Chemie der Haut. II. Der mikrochemische Nachweis der Keratine durch Millons Reagenz (Monatshefte f. prakt. Dermatologie Bd. XLVII, 1908, p. 595—606 m. 1 Tfl.).

Millons Reagenz (Bezugsquelle: C. A. F. Kahlbaum, Berlin) ist eine Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd, welche gleichzeitig salpetrigsaures Quecksilber enthält. Man bereitet das Reagenz durch Auflösen von metallischem Quecksilber in 2 Teilen Salpetersäure (spez. Gew. 1·42) zuerst in der Kälte, dann unter mäßigem Erwärmen und Hinzufügen des doppelten Volumens Wassers und filtriert die Flüssigkeit von dem ausgeschiedenen Bodensatze. Diese Lösung bringt die Hautschnitte zum Schrumpfen und muß daher für die Schnittfärbung verdünnt werden. Am besten mischt man sie mit einem gleichen Volumen Wasser, wobei noch kein basisches Quecksilbersalz ausfällt und $^1/_5$ Volumen reinen Glyzerins. Durch den Glyzerinzusatz werden die Schnitte zugleich etwas aufgehellt und für eine provisorische Untersuchung geeignet. Die Schnitte verbleiben in der Lösung etwa eine Viertel- bis eine halbe Stunde. Sie dürfen nachher nicht mit Wasser abgespült werden, da hierbei Niederschläge von basischem Merkurinitrat entstehen würden, sondern sie kommen aus dem Millonschen Reagenz auf kurze Zeit in Salpetersäure (25 Prozent) und von da durch Alkohol in Öl und Balsam. Auch in solchen Dauerpräparaten pflegt die Färbung allmählich abzunehmen, so daß die Präparate sich nicht sehr lange halten. In der Salpetersäure tritt eine weitere Differenzierung ein, indem die kollagene Substanz fast vollständig entfärbt wird, wodurch alle zelligen viel echtes Eiweiß enthaltenden Elemente um so stärker hervortreten. Bringt man dagegen den Schnitt in Ammoniak oder Natronlauge, so nimmt die Hornschicht eine braune Farbennuance an unter starker Aufquellung der Zellen, wobei die Membran derselben stärker gefärbt erscheint. Die Verff. besprechen dann weiter die Keratine und die Pseudokeratine, zu den letzteren gehören: das Ovokeratin (Eischalenhaut), das Neurokeratin (in markhaltigen Nervenfasern), das Elastin. Aus den Untersuchungen der Verff. geht hervor, daß das letztere es noch weniger als die beiden ersteren verdient, zur Keratingruppe gerechnet zu werden. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Golodetz, L., u. **Unna, P. G.,** Zur Chemie der Haut. III. (Monatshefte f. prakt. Dermatologie Bd. XLVIII, 1909, p. 149—166 m. 1 Tfl.).

Die Verff. heben hervor, daß viele Eiweißstoffe eine stark reducierende Kraft besitzen; bekannt ist dies vom lebenden Organismus, es war fraglich, ob sie auch das tote Eiweiß besaß. Diese Frage läßt sich durch Versuche lösen, bei denen solche Oxydationsmittel mit toten Geweben in Berührung gebracht werden, die bei der Reduktion dem Gewebe eine bestimmte Färbung erteilen. Bei einem solchen Färbemittel müssen folgende Bedingungen erfüllt sein: 1) Das Färbemittel darf nicht in die Klasse der Farbstoffe gehören, sondern die Farbe muß erst durch den Kontakt mit dem Gewebe erzeugt werden. 2) Dasselbe muß leicht durch das Gewebe reduziert werden. 3) Es muß dabei mit dem Gewebe eine gefärbte Verbindung ergeben. 4) Dieses gefärbte Produkt muß eine andere Farbe besitzen, wie das Färbemittel selbst, so daß der Farbumschlag die Reduktion bestimmt anzeigt. Diese Bedingungen erfüllen nach den bisherigen Erfahrungen der Verff. zwei Reagenzien aus der unorganischen Chemie: 1) Das Kaliumpermanganat, 2) ein Gemisch von Eisenchlorid und Ferricyankalium. Wenn man Schnitte von Gewebe, das in Alkohol gehärtet ist, in die Lösung dieser Stoffe bringt, so entsteht eine Reduktion, die sich dadurch zeigt, daß die Schnitte gefärbt werden, und zwar durch die violette Lösung von Kaliumpermanganat: braun (Ausscheidung von Mangansuperoxyd), durch die schwach gelb gefärbte Mischung von Eisenchlorid und Ferricyankalium: blau (Entstehung von Berliner Blau). Diese Färbungen zeichnen sich vor den gewöhnlichen Färbungen der Gewebsschnitte dadurch aus, daß wir über den dabei stattfindenden einfachen chemischen Prozeß vollkommen im klaren sind. Sie haben mit unseren gewöhnlichen Färbungen das gemeinsam, daß dabei die hauptsächlichsten Elemente der Haut scharf hervortreten. Dieser Umstand beruht darauf, daß die chemisch verschiedenen Elemente der Haut auch noch im abgetöteten Zustande eine Affinität von bestimmter und verschiedener Stärke zum Sauerstoffe besitzen. Dieselben werden in beiden Reagenzien ungleich stark und ungleich schnell gefärbt, so daß man die Reduktionskraft der verschiedenen Gewebselemente an der Stärke und Schnelligkeit der Verfärbung beurteilen kann. 1) Die Manganfärbung: die Schnitte kommen aus Wasser in eine einprozentige Lösung von Kaliumpermanganat und bleiben darin nur kurze Zeit: meist genügen schon 1 bis 2 Minuten. Dann

gutes Ausspülen in Wasser. Ist die Färbung zu stark, so kann man mit Oxalsäure oder noch besser mit Solutio calcii bisulfurosi leicht entfärben. Die Entfärbung ist eine sukzessive und man kann sie so weit führen als man wünscht. 2) Die Eisen-Cyanfärbung der Haut: Man hält sich hier eine einprozentige Lösung von Eisenchlorid und von rotem Blutlaugensalze in destilliertem Wasser vorrätig und mischt unmittelbar vor dem Gebrauche (durch langes Stehen, namentlich am Lichte, verdirbt die Mischung) gleiche Teile dieser Lösungen in einem Schälchen. Die hier hineingebrachten Schnitte färben sich ziemlich schnell blau und mit der Zeit sehr stark. Etwa nach 5 Minuten sind die Schnitte genügend gefärbt, werden in Wasser abgespült und durch Alkohol und Öl in Balsam gebracht. Die Färbung ist durchaus echt, weder Wasser noch Alkohol, noch verdünnte Mineralsäuren üben irgendeine Entfärbung aus. Nur stärkere Kalilauge vermag den gefärbten Schnitt rasch und vollständig zu entfärben. Die Blaufärbung ist nur als eine Protoplasmafärbung zu bezeichnen. — Zwischen den beiden soeben beschriebenen Färbungen besteht folgender Unterschied: Die Manganfärbung bringt unbekümmert um die Alkaleszenz oder Azidität der umgebenden Farblösung nur den Grad der reduzierenden Kraft der Gewebselemente zum Ausdrucke; die Eisensalzmischung dagegen ist ein Mittel, um neben der Reduktionskraft den Einfluß der Alkaleszenz und der Azidität sowohl der Farblösung wie der Gewebselemente zu beurteilen. Eine weitere, nach dem gleichen Prinzipe wirkende Färbung ist die mit Nitrochrysophansäure: Die Schnitte kommen aus Alkohol in Chloroform, von da in die gelbe Lösung von Nitrochrysophansäure-Chloroform und verbleiben darin etwa 10 Minuten. Dann kommen die Schnitte wiederum, um Alkohol zu vermeiden, in Chloroform, von da in Öl und Balsam. Setzt man zu dieser Farblösung Essigsäure, so erhält man genau so wie bei Zusatz dieser Säure zu der Eisencyanfärbung eine vollkommene Inversion der Färbung.

Schiefferdecker (Bonn).

Laffont, A., Recherches sur l'origine des grains de kératohyaline (Bibliogr. anat. t. XVIII, 1909, fasc. 4, p. 209—214 av. 2 figg.).

Verf. hat den Ursprung der Keratohyalinkörner an dem kardialen Teile des Rattenmagens studiert, der ein geschichtetes Plattenepithel trägt. Fixiert wurde mit den Flüssigkeiten von Bouin, Tellyesniczky, Flemming, mit Alkohol. Gefärbt wurde zunächst mit den gewöhn-

lichen Methoden und dann mit den von Regaud nach Fixierung in Tellyesniczkyscher Flüssigkeit für die Sekretionskörper empfohlenen Methoden. Außerdem wurden mit Nutzen verwendet die Behandlung mit Ammoniak, mit Ameisensäure und mit Essigsäure vor der Färbung. Die besten Resultate ergab die von Regaud 1903 empfohlene Methode: 24stündiges Beizen der Schnitte bei 38⁰ in einer 4prozentigen Lösung von Eisenalaun unter Zufügung von einem Prozent konzentrierter Schwefelsäure; Verf. hat sodann mit 0·5prozentiger Lösung von Hämatoxylin 24 Stunden lang gefärbt und in 2prozentiger Lösung von Eisenalaun differenziert. Wie schon oben erwähnt wurde, waren die Stücke fixiert worden in der Flüssigkeit von Tellyesniczky.

Schiefferdecker (*Bonn*).

Amato, A., Die Ganglienzelle bei der Insolation (Virchows Arch. Bd. CXCV, 1909, H. 3, p. 545—555 m. 1 Tfl. u. 1 Fig. im Text).

Verf. versuchte festzustellen, welche Veränderungen sich zeigen in der chromatischen Substanz und in dem Neurofibrillennetze im Innern der Ganglienzelle, nach Einwirkung direkter Sonnenbestrahlung. Im Juli und August wurden in der Zeit von 12 bis 2 Uhr mittags ausgewachsene Kaninchen 20 bis 50 Minuten lang den Sonnenstrahlen direkt ausgesetzt bei einer Temperatur von 37 bis 43 Grad. Das Chromatin wurde nach der Thioninmethode von Lenhossék in der Modifikation von Scagliosi gefärbt, die Neurofibrillen mit der Silbermethode von Cajal in der Modifikation von Pusateri. Die letztere besteht in folgendem: Das Silbernitrat zur Durchtränkung der Stücke wird durch Tachiol (Argentum fluoratum) ersetzt, welches wegen des Fluorgehaltes schneller und besser fixiert als Silbernitrat, auch die zentralen Teile der Stücke werden gleichmäßig und schnell durchtränkt. Ferner wird das reduzierte Silber durch Gold ersetzt, wodurch die Neurofibrillen feiner und schärfer hervortreten: Stücke von 3 mm Dicke kommen auf 3 bis 6 Tage im Thermostaten bei 35 bis 38 Grad in eine Lösung von

Tachiol	45·0 cc
Destilliertes Wasser	155·0 „

Dann leichtes Abwaschen in destilliertem Wasser und Einlegen für 24 Stunden in

Destilliertes Wasser	100·0 cc
Formol	5—10·0 „
Hydrochinon	1—2·0 g

Abwaschen, Entwässern, Einbetten. Die auf Objektträger geklebten Schnitte werden von Paraffin befreit und kommen dann durch Alkohol und Wasser in eine Mischung von

Destilliertem Wasser	10·0 cc	
Aurum chloratum, einprozentige Lösung	5	Tropfen
Acidum aceticum	2	„

Wenn die Schnitte eine eisengraue Färbung angenommen haben, werden sie in unterschwefligsaurem Natrium (5prozentige Lösung) bis zur violetten Tönung gewaschen, dann mehrere Male mit Wasser abgespült, in absolutem Alkohol entwässert, dann Xylol, Balsam.

Schiefferdecker (Bonn).

Ugdulena, G., Über die Färbbarkeit der Achsenzylinder peripherer Nerven bei primärer und sekundärer Degeneration nach der Ernstschen Methode der Nervenfärbung (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XLV, 1909, H. 2, p. 245—252 m. 1 Tfl.).

Verf. hat gefunden, daß man den von Ernst beschriebenen Radspeichenbau der Nervenfaser sehr gut benutzen kann, um festzustellen, ob eine Degeneration der Nerven eingetreten ist oder nicht. Mit Hilfe der für den Radspeichenbau geeigneten Methode kann man schon fast den ersten Augenblick einer beginnenden Veränderung im Nerven feststellen. Die Methode von Ernst besteht in einer Färbung mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain. Die Markscheiden treten dabei dunkelblau hervor, während die Achsenzylinder der normalen Nervenfasern ungefärbt bleiben oder nur leicht grau gefärbt erscheinen. Die Entfärbung der Achsenzylinder der Nerven und der anderen sich entfärbenden Teile des Präparates geschieht nicht immer in gleich langer Zeit, vielmehr scheint die Dicke des Schnittes für die Entfärbungszeit eine wesentliche Rolle zu spielen. Am besten verfolgt man daher die Entfärbung unter dem Mikroskope bei schwacher Vergrößerung. Bei einiger Übung gelingt es, an dem Farbentone schon makroskopisch zu erkennen, zu welchem Zeitpunkte man in geeigneter Weise die Entfärbung unterbrechen muß. Sehr häufig entfärben sich trotzdem der Achsenzylinder und die Radspeichen des Nervenmarkes. Es rührt dies wahrscheinlich nicht von einer mangelhaften Technik her, sondern ist wohl abhängig von dem Zustande der degenerierenden Nerven. Wahrscheinlich ist es, daß der Achsenzylinder bei degenerierenden Nerven der

Entfärbung einen größeren Widerstand leistet, so daß auf diese Weise ein gleichartiges Verhalten von Achsenzylinder und Radspeichen des Nervenmarkes gegenüber der Entfärbung herauskommt. Man kann also sagen, daß sich im degenerierenden Nerven außer den Radspeichen auch der Achsenzylinder färbt. So nach Einwirkung von Toxinen, nach Einwirkung des Tollwutgiftes. Da die Veränderung des Achsenzylinders sofort, ja gerade hauptsächlich im Anfangsstadium der Giftwirkung auftritt, so glaubt Verf., in dieser Methode eine Möglichkeit gefunden zu haben, die ersten Phasen primärer und sekundärer Nervendegeneration zu studieren. Man kann nach Verf. diese Methode geradezu als eine histochemische Reaktion der Nervendegeneration ansehen. Als geeignetstes Fixierungsmittel für die Darstellung dieser Dinge ist die Zenkersche Lösung, Sublimat oder Formol anzusehen. Nach Fixierung in diesen Flüssigkeiten wird man verzerrte Formen des Achsenzylinders nur in Fällen von tiefgreifender Veränderung des Nerven sehen können.

Schiefferdecker (Bonn).

Marchand, F., Untersuchungen über die Herkunft der Körnchenzellen des Zentralnervensystems (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XLV, 1909, H. 2, p. 161—196 m. 1 Tfl.).

Verf. hat seine Untersuchungen an mehreren embolischen Erweichungsherden des Gehirns, an mehreren Fällen von sekundärer Degeneration im Rückenmarke und an einigen Fällen von multipler Sklerose angestellt. Er benutzte besonders Fixierung kleiner Stücke in Flemmingscher Lösung mit nachfolgender Safraninfärbung. Ferner Gefrierschnitte von mit Formol fixiertem Materiale mit nachfolgender Sudan- und Hämatoxylinfärbung. Zur Kontrolle wurden von den meisten Fällen auch Stücke in Zenkerscher Flüssigkeit, in Formol und Müllerscher Flüssigkeit fixiert und nach verschiedenen Methoden gefärbt. *Schiefferdecker (Bonn).*

Meyer, P., Zur Technik der Markscheidenfärbung (Neurol. Zentralbl. Jahrg. XXVIII, 1909, No. 7, p. 353—354).

Verf. hebt hervor, daß die Erfahrung gelehrt hat, daß die Markscheidenpräparate, die nach den verschiedenen Weigertschen Methoden und Modifikationen von menschlichem Materiale hergestellt werden, sehr verschiedenartige Bilder zeigen, sowohl was die Reichhaltigkeit der Fasern, als auch was die Klarheit des Grundes be-

trifft. Verf. hat nun Versuche darüber angestellt, welche Art der Technik die günstigste ist. Methode: Härten in einer 5prozentigen Lösung von Kaliumbichromat im Thermostaten bei 37⁰. Die Lösung ist namentlich im Anfange mehrmals zu wechseln. Meist handelte es sich um Material, das schon vorher in 10prozentiger Formollösung fixiert worden und erst etwa 14 Tage später mit dem EDINGERschen Makrotom in gleichmäßig dünne Scheiben zerlegt worden war. Die Härtungsdauer variiert je nach der Größe der Stücke zwischen 14 Tagen und einigen Monaten. Die weiße Substanz muß überall braun werden, nicht gelb; es sind daher Scheiben mehr zur Härtung zu empfehlen als ganze Gehirne. Kleinere Tiergehirne hat Verf. oft direkt unzerschnitten aus dem Formol in die WEIGERTsche Markscheidenbeize (Kaliumbichromat 5·0, Fluorchrom 2·0, Wasser 100·0) gebracht, was vortreffliche Resultate ergab. Beim menschlichen Gehirne wurde dies nur für kleinere Stücke versucht. Die Härtungsdauer ist bedeutend kürzer. Gründliches Auswaschen in 70prozentigem Alkohol, der so oft zu wechseln ist, bis er sich nicht mehr dunkel färbt. Man stellt das Glas am besten in einen dunklen Schrank. Celloïdineinbettung, Schneiden: die Schnitte durch ganze Gehirne waren bis 50 μ dick und differenzierten sich doch noch ganz gut nachher. Die Schnitte kommen auf wenigstens 24 Stunden bei 37⁰ in Kupferbeize:

Essigsaures Kupferoxyd	50·0
Essigsäure	50·0
Fluorchrom	25·0
Aqua destillata	ad 1000·0

Man kann auch bei kleinen Stücken den Celloïdinblock in toto kupfern, nur muß man ihn dann 48 Stunden warm in der Beize stehen lassen. Abspülen in 70prozentigem Alkohol. Färben 24 Stunden oder über Nacht in einer Mischung von gleichen Teilen:

1) Hämatoxylinstammlösung (Hämatoxylin 1, Alkohol 9) . . . 10·0
   Alkohol, 96prozentiger . . . 90·0
2) Liquor ferri sesquichlorati (Pharm. germ.), 4prozentige Lösung in Wasser.

Die Mischung wird erst zum Gebrauche hergestellt und muß tüchtig durcheinander gerührt werden; Abspülen in Wasser. Differenzieren in:

Borax	2·0
Ferridcyankalium	2·5
Aqua destillata	100·0

Anfangs benutzt man die Lösung stark verdünnt, dann mit geringerem Wasserzusatze, zuletzt eventuell rein. Die Schnitte müssen wenigstens 24 Stunden in öfters zu wechselndem Wasser liegen bleiben, dem man einige Tropfen von Lithion carbonicum zusetzen kann. Dann Alkohol 70 Prozent, Alkohol 96 Prozent, Karbolxylol 1 : 3, Xylol, Kanadabalsam. — In letzter Zeit benutzt Verf. zum Auflegen großer Gehirnschnitte vom Photographen bezogene, gebrauchte Platten, was bei großem Bedarfe eine bedeutende Ersparnis ausmacht. *Schiefferdecker (Bonn).*

Regaud, Cl., Sur un procédé de coloration de la myéline des fibres nerveuses périphériques et sur certaines analogies de réactions microchimiques de la myéline avec les mitochondries (C. R. Acad. sciences Paris t. CXLVIII, 1909, no. 13, p. 861—862).

Die Methode ist dieselbe, welche Verf. vor kurzem zum Studium der Mitochondria vorgeschlagen hat (C. R. Soc. Biol. Paris, 19 Déc. 1908; vgl. auch C. R. Acad. sciences, 8 Mars 1909); sie ist im wesentlichen charakterisiert durch: 1) eine Fixierung der Stücke in Formol mit gleichzeitiger oder darauffolgender Chromierung; 2) eine Färbung der Schnitte (die sehr dünn, 5 μ, sein müssen) mit Eisenhämatoxylin. In den Schnitten irgendeines so behandelten Gewebes, z. B. Haut, Muskeln, Nebenniere, finden wir an den Nervenfasern die Markscheide scharf vortretend schwarz gefärbt. Auch die feinsten markhaltigen Nervenfasern, auch die isoliert verlaufenden, sind leicht sichtbar. Die Lantermanschen Einkerbungen und die zwischen ihnen befindlichen Marksegmente sind sehr deutlich. Was die gute Konservierung des Baues anlangt, so übertrifft diese Methode bei weitem die bekannten Methoden von Weigert und Pal; die letzteren Methoden haben aber dann ihre Vorteile, wenn man sehr große und dicke Schnitte zu topographischen Zwecken färben will. In den Spinalganglien des Hundes hat diese Methode dem Verf., so weit es sich um die markhaltigen Nervenfasern handelt, eine Färbung ergeben, die auf das Neuro-Keratinnetz von Ewald und Kühne beschränkt blieb. Die Ursache dieser eigentümlichen Reaktion ist unbekannt. Einprozentige Osmiumsäure, die zusammen mit dem Formol oder hinterher angewendet wird, gibt in denselben Geweben ebenso gute Resultate, wie die beschriebene Methode; ihre Anwendung hat aber den Nachteil, daß man sie nur bei verhältnismäßig kleinen

Stücken benutzen kann, da sie so wenig eindringt. Bei der Besprechung der Mitochondria hat Verf. angenommen, daß sie aus einer protoplasmatischen Stützsubstanz und aus einem Fettstoffe besteht. Verf. hebt nun hervor, daß die gleichartige Reaktion seiner Methode bei der Mitochondria und bei der Markscheide der Nervenfasern seine Annahme über den Aufbau der Mitochondria stützt. Man darf natürlich nicht an eine Übereinstimmung der chemischen Beschaffenheit zwischen dem Nervenmarke und der Mitochondria denken, so namentlich schon deshalb nicht, weil die Osmiumsäure bekanntlich das Mark schwärzt, aber die Mitochondria gewöhnlich in keiner Weise färbt. Das gewöhnliche Fett der normalen Fettzellen des Bindegewebes ist im Gegensatze zu dem Myelin (phosphorhaltiges Fett) weder unlöslich noch färbbar durch die von dem Verf. beschriebene Methode. *Schiefferdecker (Bonn).*

Regaud, C. L., Sur les mitochondries de l'épithélium séminal. III. Technique, variations histochimiques (C. R. Soc. Biol. Paris t. LXV, 1908, no. 37, p. 660—662).

Verf. gibt in dieser kurzen Mitteilung eine kurze Übersicht über seine Färbemethoden. Man muß bei diesen unterscheiden die „Färbung“ von zwei vorhergehenden Operationen: der „Fixierung“ und der „Beizung mit Chrom“ oder der „Chromierung“ (chromisation), die entweder nacheinander oder gleichzeitig ausgeführt werden können. I. Färbung: Gefärbt wurde stets mit Eisenhämatoxylin (Heidenhain) mit einigen Modifikationen der ursprünglich angegebenen Methode, die indessen nicht besonders wichtig sind. Die Dauer der Färbung ist weit weniger wichtig als die der Färbung vorangehenden Prozesse. II. Fixierung und Chromierung: A. Die Fixierung mit der Mischung von Bouin (gesättigte wässerige Lösung von Pikrinsäure 75 Volum.-Teile, Formol 20 Volum.-Teile, Essigsäure 5 Volum.-Teile) ohne Chromierung gibt gewöhnlich keine Färbung der Mitochondria. B. Dieselbe Fixierung direkt gefolgt von einer Chromierung der Stücke in einer 3prozentigen Lösung von Kaliumbichromat während 2 bis 4 Wochen bei einer Temperatur von etwa 20° erlaubt eine Färbung: a) der lipoiden Einschlüsse; b) gewisser Mitochondriakörner, die in der Keimschicht und besonders in den Stielen der Spermatophoren liegen; diese Körner bilden nur einen kleinen Teil der Mitochondria des Syncytiums, zeigen aber das Aussehen und die quantitativen Veränderungen dieser. C. Die Fixierung

mit einer Mischung von Pikrinsäure 80 Teile, Formol 20 Teile (ohne Essigsäure) ohne darauffolgende Chromierung gestattet, dieselben Mitochondriakörnchen des Syncytiums zu färben, ergibt aber keine färbbare Mitochondria in den Spermatocyten (auxocytes) oder in den Spermien. D. Die Fixierung mit der eben angegebenen Mischung direkt gefolgt von der Chromierung der Stücke (wie unter B) erlaubt, alle Mitochondria des Samenepithels zu färben unter Berücksichtigung von E. E. Die Fixierung in einer 10- bis 50prozentigen Formollösung direkt gefolgt von der Chromierung (wie für B) erlaubt eine Färbung der gesamten Mitochondria des Syncytiums und der Spermatocyten (auxocytes) mit einer hervorragenden Elektivität. Aber die Mitochondria der Spermien (besonders der periaxialen Hülle, des Spiralfadens und der Zwischensubstanz) bleibt meist ungefärbt. F. Die Fixierung und Chromierung mit einer Mischung von einer 3prozentigen Lösung von Kaliumbichromat 80 Volum.-Teile und Formol 20 Volum.-Teile gefolgt oder nicht gefolgt von einer supplementären Chromierung (Landsteiner [1903] hat die Mitochondria in den Nieren und der Leber gefärbt nach einer Fixierung in Müllerscher Flüssigkeit verdünnt mit dem gleichen Volumen 10prozentiger Formollösung) ergibt für das Samenepithel dieselben Färbungsresultate wie der Prozeß unter E. Für die anderen Gewebe, die Verf. untersucht hat, ist dieses die beste Methode. G. Die Fixierung und Chromierung mit der Mischung von Tellyesniczky (3prozentige Lösung von Kaliumbichromat 100 Volum.-Teile und Essigsäure 5 Volum.-Teile) erhält für die Mitochondria die Färbbarkeit nicht genügend. H. Dieselbe Mischung mit Zusatz von 20 Prozent Formol erlaubt keine Mitochondriafärbung in dem Syncytium und in den Spermatocyten (auxocytes); sie läßt die Mitochondriakörner der Spermien leicht quellen und macht sie leicht färbbar, ebenso wie den Achsenfaden (filament spécial) und die Zwischensubstanz. Verf. kommt daher zu dem Schlusse, daß die Mitochondriabildungen des Samenepithels untereinander histochemisch nicht gleich sind. Durch stets zutreffende Differenzialreaktionen konnte Verf. unterscheiden: a) Körner, die widerstandsfähig sind gegen Essigsäure (B) und färbbar ohne Chromierung (C); sie kommen nur im Syncytium vor; b) Mitochondriabildungen, die ausschließlich in den Spermien liegen, widerstandsfähig sind gegen Essigsäure, aber eine intensive Chromierung verlangen (H); c) Körner, die nicht widerstandsfähig gegen Essigsäure sind und eine Chromierung verlangen (D, E, F), sie liegen im Syncytium und in den Spermatocyten (auxocytes). — Bestimmte

Mitochondriabildungen, aber nicht alle, werden ungünstig beeinflußt durch die Einwirkung von verdünnter Essigsäure. — Die vorherige Einwirkung des Chroms auf die Mitochondria erscheint fast unerläßlich, um ihre Färbung durch den oben angegebenen Farbstoff zu erhalten. Verf. nimmt an, daß es sich bei der Mitochondria, besonders bei Anwesenheit von Formol, um eine organische Chromverbindung handelt, die mit Eisenhämatoxylin leicht färbbar ist.

Schiefferdecker (Bonn).

C. Mikroorganismen.

Koch, A., Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungs-Organismen (Jahrg. XVII, 1906, Leipzig [S. Hirzel] 1909, VIII und 624 pp). 24 M.

Nach längerer Pause dürfen wir wieder das Erscheinen eines neuen Bandes der rühmlichst bekannten Kochschen Jahresberichte anzeigen.

Das zweite Kapitel der Jahresberichte enthält Referate über Nährsubstrate und Kulturmethoden, Färbeverfahren und ultramikroskopische Untersuchungsmethoden und -resultate, soweit Bakterien oder andere Mikroorganismen in Betracht kommen. Die meisten der behandelten Originalarbeiten sind auch in dieser Zeitschrift bereits besprochen worden. *Küster (Kiel).*

Babes et **Feodorasco,** Sur deux microbes intermédiaires entre le paratyphique B et le bacille typhique (C. R. Soc. de Biol. vol. LXVI, 1909, p. 787).

Verff. isolierten von einer Frau, mit Typhussymptomen gestorben, zwei Bazillen, die eine Zwischenstellung zwischen Paratyphus B und Typhusbazillus einnehmen. Der erste Bazillus unterscheidet sich vom Paratyphus dadurch, daß er: a) auf Neutralrot nicht reagiert; b) Milch nicht alkalisch macht; c) mit Paratyphusserum nicht agglutiniert wird. Vom Typhusbazillus unterscheidet er sich dadurch, daß er: a) Gas produziert; b) spät Alkali auf Petruschki-Nährboden erzeugt; c) Grünfärbung auf Artischocken erzeugt; d) mit Typhusserum nicht agglutiniert wird.

Bazillus II ist morphologisch dem Paratyphus B ähnlich; a) produziert aber von Anfang an Alkali in Milch; b) macht Artischocken nicht grün; c) wird mit Paratyphusserum nicht agglutiniert.

G. Seliber (Paris).

Ciuca, A., et **Fenea, G.,** Recherches sur le diagnostique post mortem du charbon bactéridien par l'examen bactériologique des matières fécales (C. R. Soc. de Biol. vol. LXVII, 1909, p. 301).

Die bakteriologische Untersuchung der Fäkalien ist ein sicheres Mittel zur Diagnostik post mortem von Milzbrand, auch dann, wenn die Kadaver der Fäulnis unterworfen sind und andere Methoden keine sicheren Resultate geben. *G. Seliber (Paris).*

Levaditi, C., et **Stanesco, V.,** Culture de deux Spirochètes de l'homme [Sp. gracilis et Sp. balonitidis] (C. R. Soc. de Biol. vol. LXVII, 1909, p. 188).

Verff. kultivieren die Spirochäten in Symbiose mit den sie im Eiter begleitenden Bakterien. Sie impfen die Bakterien in ein großes Reagenzglas mit Pferdeserum und 3 Tage nachher legen sie in das Glas ein Kollodiumsäckchen mit Pferdeserum, das mit Spirochäten geimpft ist; es gelingt auch, wenn man die Spirochäten gleich in bei 75° koaguliertes Pferde- oder Menschenserum impft. Zur Isolierung kann man sich der Eigenschaft bedienen, daß auf den dritten oder vierten Tag, wenn die Verflüssigung des Serums durch die Bakterienwirkung vorwärts gegangen ist, die Parasiten sich auf den peripherischen Teilen befinden. *G. Seliber (Paris).*

Proca, G., Sur une coloration différentielle des bactéries mortes (C. R. Soc. de Biol. vol. LXVII, 1909, p. 148).

Eine Mischung:

Fuchsin (Ziehl)	8 cc
Dest. Wasser	100 „
Löfflers Blau (besser alt)	100 „

(vor dem Gebrauch mindestens 24 Stunden der Luftwirkung aussetzen) gibt gute Resultate zur Differenzierung toter Bakterien von lebenden. Färbt man eine Minute und wäscht mit Wasser, so nehmen lebende Bakterien eine blaue, tote eine rote Färbung an.

G. Seliber (Paris).

Proca, G., et **Danila, P.,** Sur une coloration différentielle des spores tuées (C. R. Soc. Biol. vol. LXVII, 1909, p. 307).

Tote Sporen nehmen nach der Färbung mit der oben genannten Mischung eine Blaufärbung an, normale Sporen bleiben farblos.

Eine dezinormale Lösung von NaOH eignet sich besonders zur Vorbehandlung bei Färbung der Sporen, werden sie in dieser zum Sieden gebracht, so nehmen sie nach Färbung die Blaufärbung an. Die Differenzierungsmethode kann zur Kontrolle bei Desinfektion dienen, indem man nachsieht, ob Sporen, auf einen Objektträger gebracht, getötet werden. *G. Seliber (Paris).*

Dopter, Etude de quelques germes isolés du rhinopharynx, voisins de méningocoque [paraméningocoques] (C. R. Soc. de Biol. vol. LXVII, 1909, p. 74).

Verf. isolierte vom Nasenmucus bei Personen, die sich in Berührung mit Meningitkranken befanden, Mikroben, die dieselben morphologischen und kulturellen Eigenschaften wie echte Meningokokken haben, unterscheiden sich aber von der Gruppe Weichselbaum durch Abwesenheit von Agglutination und Existenz von Co-Präzipitinen; durch die Bobdetsche Reaktion unterscheiden sie sich von Pseudomeningokokkengruppen. Verf. will aus diesen Mikroben eine Parameningokokkengruppe bilden. *G. Seliber (Paris).*

Chaussé, P., Méthodes de coloration communes à l'actinobacillose, l'actinomycose et la botrynomycose (Ann. de l'Inst. Pasteur vol. XXIII, 1909, p. 502).

Es ist bekannt, daß Actinobazillen im Gegensatz zu Actinomycose sich nicht nach Gram färben, Verf. stellte fest, daß in Anhäufungen von Actinobazillen, wo sie sich im Kontakt mit tierischen Geweben befinden, diese sich ganz wie die Kolben von Actinomyces nach Gram färben. Es gibt auch andere Färbungsmethoden, die diesen beiden Arten, wie auch der Botrynomycose gemeinschaftlich sind.

Wir führen hier die modifizierte Gram-Methode des Verf. an.

Zur Fixation bediente sich der Autor folgender Mischung:

Alkohol 90° mit Pikrinsäure gesättigt	50 cc
Alkohol 90° $^1/_{10}$ $HgCl_2$ zugefügt	50 „
Formol (40 Prozent)	2 „

Einen bis 2 Tage in dieser Flüssigkeit; Auswaschen mit Jodalkohol, um Sublimat zu entfernen, dann Aceton, Xylol und in Paraffin ein-

schließen. Schnitte nach SCHOELLIBAUM angeklebt. Nach Entfernung von Paraffin mindestens 12 Stunden in gewöhnlichem Wasser, um die Pikrinsäure zu entfernen. Nicht trocknen.

a) Der Grund wird mit Karmin gefärbt, mit Karminalaunessigsäure nach HENNEGUY oder mit Alaunkarminsäure, im letzteren Falle der Überschuß der Karminsäure mit Salzsäurealkohol zu entfernen (abs. Alk. 50 cc, 4 Tropfen HCl), in beiden Fällen mit Wasser auswaschen.

b) Färbung der Büschel der Actinobazillen mit Methylviolett 6 B.

Formolwasser, 2 auf 100	50 cc
Gesättigte alkohol. Lösung von Methylviolett 6 B	4 „

ungefähr 2 bis 4 Stunden.

c) Differenzieren mit einer gewöhnlichen Jodjodkaliumlösung einige Sekunden.

d) Entfärben vorsichtig mit einer Mischung von Anilin-Xylol (1 Teil Anilinöl, 2 Teile Xylol) oder mit Acetonalkohol (abs. Alk. und Aceton gleich).

Bei Actinobazillen ist das Zentrum der Büschel ungefärbt, bei Actinomycose sind die Filamente ebenfalls violett gefärbt; die Kolben von Actinomycose sind voluminöser, weniger regelmäßig und nicht so gleichmäßig gefärbt wie Actinobazillen; bei Actinomycose bewahren die dünnen die Färbung nicht. Außerdem werden noch Färbungsmethoden mit Phenosafranin, HOFFMANNS Violett, Eosin oder Methyleosin und mit saurem Fuchsin, im ganzen fünf Methoden, angegeben. *G. Seliber (Paris).*

Noc, Recherches sur la dysentérie amibienne en Cochinchine (Ann. de l'Inst. PASTEUR vol. XXIII, 1909, p. 177).

Verf. untersuchte eine Amöbe, die aus der Wand eines Leberabszesses isoliert wurde. Die Amöbe läßt sich auf Agar in Symbiose mit Bakterien kultivieren. Zur Cystenisolierung verfährt man folgendermaßen: in einem Reagenzglas mit Agar ohne Pepton wird eine Strichkultur von B. coli, pyocyaneus oder subtilis angefertigt; auf einen durch die Flamme gezogenen Objektträger wird ein rundes in der Flamme sterilisiertes Deckgläschen gelegt; man bereitet eine Emulsion von einer encystierten Amöbenkultur (diese bekommt man, indem man Eiter aus dem Abszeß mit Bakterien und Amöben auf eine Petrischale mit Agar überträgt); mit einer feinen Pipette bringt man ein Tröpfchen der Emulsion auf das Deckgläschen, breitet dann das Tröpfchen aus, bis man auf einem Gläschen ein Tröpfchen mit

einer Cyste erhält, dann läßt man das Deckgläschen gleiten und auf den Grund des Reagenzglases fallen, man breitet mittels des Kondensationswassers die Bakterien mit der Cyste auf der Agaroberfläche aus und läßt in geneigter Stellung bei 22 bis 25° stehen. Aus zwölf Kulturgläsern erhält man zwei bis drei mit reichen Kulturen aus einer Cyste.

Die isolierte Amöbe, die der Entamoeba histolytica nahe steht, gleicht denen, die sich im dysenterischen Stuhl und in Darmgeschwüren befinden, auch denen, die im Wasser in Cochinchina zu treffen sind.

G. Seliber (Paris).

Haserodt, H., Neue Methoden zum Nachweis von Tuberkelbazillen im Sputum (Hygien. Rundschau Jahrg. XIX, 1909, H. 12, p. 699).

Verf. überträgt das von Lange und Nitsche ausgearbeitete Verfahren, die Tuberkelbazillen nach Homogenisierung des Sputums durch Kalilauge mit Ligroin auszuschütteln, auf die Antiforminmethode Uhlenhuths; nach den erzielten Resultaten verspricht die Methode eine erhöhte Sicherheit des Tuberkelbazillennachweises zu bieten; sie dürfte sich ferner auch dadurch empfehlen, daß sie ohne Anwendung einer Zentrifuge sich ausführen läßt. Verf. verfährt, indem er das Sputum mit der 4- bis 5fachen Menge einer 5prozentigen Antiforminlösung tüchtig durchschüttelt und die Mischung etwa 10 Stunden bei 37° oder 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen läßt. Nach dieser Zeit wird sie „mit 1 bis 3 cc Ligroin so lange geschüttelt, bis eine dichte Emulsion entsteht. Nach 10 Minuten langem Stehen im Wasserbad bei ungefähr 60° hat sich das Ligroin teils klar, teils schaumig abgesetzt". Aus der abgeschiedenen Ligroinschicht werden darauf Proben zur weiteren, in der üblichen Weise erfolgenden Untersuchung mit der Platinöse entnommen.

W. Reidemeister (Berlin).

Wasielewski u. Hirschfeld, Zur Technik der Amöbenuntersuchung (Hygien. Rundschau Jahrg. XIX, 1909, H. 16, p. 925).

Zur Untersuchung der Teilstadien der Amöben bringt man einen 1 bis 1·5 cm breiten Streifen der Kultur auf Agar, besonders Teile von den zarten Säumen, welche wenig Bakterien enthalten, auf den Jensen-Hansenschen Objektträger und bedeckt ihn mit einem Deckglas; die Amöben haben sich in anderthalb bis einer Stunde am Deck-

glas festgelegt. Durch Diffusion läßt man darauf die Fixierungsflüssigkeit — zur Darstellung der Kerne bedient man sich des Sublimatalkohols — einwirken, bis die Kerne deutlich hervortreten, bringt dann für 2 Stunden in Jodalkohol, wäscht mit Alkohol aus und hebt den Agar vom Deckglas ab. Das unter dem Strahl der Wasserleitung abgespülte Präparat färbt man mit Eisenhämatoxylin in Glasklötzchen, oder unter steter Kontrolle unter dem Mikroskop in Objektträgern mit Glasleisten; im letzteren Falle bringt man die Fixierungsflüssigkeit zwischen Deckglas und Objektträger. Bei dieser Methode wird allerdings keine Differenzierung zwischen Ekto- und Endoplasma erzielt, wohl aber bei kurzer Fixierung in 2prozentiger Osmiumsäure, welche man 5 Minuten einwirken läßt; das Präparat wird alsdann in 50prozentigen Alkohol 30 bis 60 Minuten gehärtet, das Deckglas abgehoben, mit Wasser abgespült und gefärbt. Durch die Osmiumalkoholfixierung bietet sich ferner die Möglichkeit, die Romanowskysche Färbungsmethode, durch welche das Ekto- und Endoplasma verschieden gefärbt werden, anzuwenden. Die durch Giemsa-Lösung überfärbten Präparate werden in angesäuertem Wasser differenziert. Das Einbetten erfolgt lufttrocken in Zedernöl. Die weitere Arbeit behandelt den Kerntypus bei verschiedenen Amöben, sowie Übergang von Amöben- in Flagellatenformen. *W. Reidemeister (Berlin).*

Federolf, Über den Nachweis des Bacterium coli im Wasser durch die Fällungsmethode (Arch. f. Hygiene Bd. LXX, 1909, H. 4, p. 311).

Zum Nachweise des Bacterium coli, dessen Gegenwart im Wasser nach Ansicht verschiedener Forscher auf eine Verunreinigung desselben deutet, dienen u. a. die Verfahren von Eykmann und von Petruschky. Verf. erreicht den Nachweis durch Fällung mit Eisensalz und Ausstrich auf Endo- und Drigalski-Agar; ferner vergleicht er die Empfindlichkeit seiner Methode mit der von Eykmann und Petruschki.

1 Liter Wasser werden mit 4 cc 10prozentiger steriler Sodalösung und darauf mit 3·5 cc einer 10prozentigen Ferrisulfatlösung versetzt. In etwa einer Stunde hat sich der Niederschlag abgesetzt; die überstehende Flüssigkeit wird abgegossen, der Niederschlag in Röhrchen verteilt und 2 bis 3 Minuten zentrifugiert. Nachdem wiederum das überstehende Wasser abgegossen ist, löst man den Niederschlag in einer 25prozentigen Lösung von weinsaurem Kali, welche so lange tropfenweise hinzugesetzt wird, bis der Niederschlag

verschwunden und eine klare Lösung entstanden ist. Dann werden Endo- und DRIGALSKI-Platten damit beimpft. Die Methode gestattet einen Nachweis von 7 Kolonien in 1 Liter Wasser.

W. Reidemeister (Berlin).

Prowazek, S. v., Taschenbuch der mikroskopischen Technik der Protistenuntersuchung. Zweite, umgearb. Auflage. Leipzig (Ambrosius Barth) 1909, 87 pp. 2·50 M.

Die neue Auflage des schon früher hier besprochenen Werkchens [1] ist sehr viel inhaltsreicher ausgefallen als die erste. Allenthalben sind die in den letzten drei Jahren veröffentlichten Beobachtungen und Erfahrungen verwertet worden. In einem Anhang behandelt die neue Auflage als Chlamydozoa die Organismen der Variola-Vaccine, der Tollwut (Lyssa), des Trachoms, der Hühnerpest, der Seidenraupengelbsucht, des Molluscum contagiosum u. a. m. Das Büchlein darf bestens empfohlen werden. *Küster (Kiel).*

Calderini, A., Untersuchungen über Anaërobenzüchtung nach dem TAROZZIschen Verfahren (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. LI, 1909, H. 6, p. 681).

Im Anschluß an TAROZZIS Mitteilungen über den Einfluß der in der Leber und anderen Organen enthaltenen Stoffe auf die Entwicklung der Anaëroben versucht Verf. die Art dieser Wirkungen näher zu analysieren. Es gelingt ihm, aus Leber einen Anaërobennährboden auf folgende Weise herzustellen: Eine fein zerhackte Kaninchenleber (oder die eines anderen Tieres) wird zur Infusion in etwa 150 cc 80prozentigen Alkohol gebracht und unter mehrmaligem täglichen Umrühren 4 oder 5 Tage auf 37° C gehalten. Die Flüssigkeit wird durch Papier filtriert und bei 50 bis 60° eingedampft, bis ein teigiger gelbbrauner Rückstand bleibt. Diesen läßt man in gewöhnlicher Bouillon zergehen. Neutralisation und 10 Minuten währende Sterilisation bei einer Atmosphäre Druck. Ähnlich wirkende Extrakte wie aus der Leber gewann Verf. auch aus Kartoffelknollen. *Küster (Kiel).*

Berka, F., Über das Verhältnis der zur Darstellung gelangenden Tuberkelbazillen bei Sputumfärbemethoden (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. LI, 1909, H. 4, p. 456—458).

[1]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXIV, 1907, p. 149.

Verf. kommt zu dem Resultat, daß die gebräuchliche Sputumfärbung nach ZIEHL-NEELSEN hinsichtlich des Nachweises der Tuberkelbazillen den andern Methoden nachsteht. Den Vorzug verdient die HERMANNsche Methode. *Küster (Kiel).*

Feoktistow, A., Eine neue Methode zur Gewinnung von Reinkulturen aus ganzen Organen und Gewebsteilen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. LI, 1909, H. 6, p. 685—687).

Verf. taucht die den geöffneten Versuchstieren entnommenen Organe oder Gewebsstücke auf einige wenige Sekunden oder noch kürzere Zeit in Ätzalkalilösung — vorzugsweise 10prozentige KOH-Lösung — und bringt sie aus dieser direkt in die Nährlösung. Die der Oberfläche des Organs oder Organstückes anhaftenden Bakterienverunreinigungen werden durch die Lauge sofort unschädlich gemacht; die anhaftende Lauge stört aber keineswegs die Entwicklung der im Innern des Organs übertragenen Keime, da beim Übertragen in die Nährlösung die geringen Mengen KOH sofort stark verdünnt und überdies unter dem Einfluß der Kohlensäure allmählich zu K_2CO_3 gebunden werden. *Küster (Kiel).*

D. Botanisches.

Karsten, G., u. **Oltmanns, Fr.,** Lehrbuch der Pharmakognosie. 2., vollständig umgearbeitete Auflage von G. KARSTENS Lehrbuch der Pharmakognosie. Mit 512 zum Teil farbigen Abbild. im Text. 358 pp. Jena (G. Fischer) 1909. 9 M., geb. 10 M.

Die neue Auflage von KARSTENS Lehrbuch der Pharmakognosie ist von KARSTEN und OLTMANNS bearbeitet worden: OLTMANNS hat die Kryptogamen, die Rhizome, Wurzeln und Knollen, die Blüten und die Rohstoffe bearbeitet, KARSTEN die Behandlung der Hölzer, Rinden, Blätter, Kräuter, Früchte und Samen behalten. Die Ausstattung des Buches, das bei jeder Droge Herkunft und Geschichte, Morphologie und Anatomie und ihre chemischen Bestandteile bespricht, ist außerordentlich reich: Habitusbilder, sehr zahlreiche, oft farbige histologische Darstellungen, Skizzen, die den Bau der Blüten, Früchte oder Samen verständlich machen helfen. Mehr noch verdient hervor-

gehoben zu werden, daß auch die ihrer Natur nach recht trockenen Schilderungen der die Drogen kennzeichnenden Gewebeformen überall in angenehm lesbarem Ton vorgetragen werden. Die Benutzung und die Durcharbeitung des Buches wird dadurch wesentlich erleichtert.

Küster (*Kiel*).

Fluri, M., Der Einfluß von Aluminiumsalzen auf das Protoplasma (Flora Bd. XCIX, 1908, H. 2, p. 81—126).

Verf. macht auf folgende Methode, Salpeter nachzuweisen aufmerksam. Eine 10prozentige Lösung von Nitron (Diphenyl-endanilodihydrotriazol) in 5prozentiger Essigsäure fällt aus dem Salpeter noch bei einer Verdünnung von 1:133000 Nitronnitrat, das in weißen Nadeln kristallisiert. *Küster* (*Kiel*).

Sauvageau, C., Sur les cultures cellulaires d'algues (Compt. Rend. Soc. Biol., séance réunion biol. de Bordeaux 7 avril 1908, p. 695).

Verf. empfiehlt bei Objektträgerkulturen von Algen sich angeätzter Glasplatten zu bedienen. In eine Bleikapsel, deren Deckel mit Löchern perforiert ist, bringt man Calciumfluorid und Schwefelsäure: Auf den durchbrochenen Deckel der Kapsel legt man den Objektträger; seine Oberfläche wird durch die austretenden Flußsäuredämpfe angeätzt und rauh gemacht. *Küster* (*Kiel*).

Svedelius, N., Über den Bau und die Entwicklung der Florideengattung Martensia (Kungl. svenska Vetenskaps Acad. Handl. Bd. XLIII, 1908, No. 7).

Fixiert wurde das Material mit Meerwasser + 2 bis 4 Prozent Formalin; Auswaschen in reinem Wasser, Entwässerung in Alkohol, Paraffineinbettung. Zum Färben diente Heidenhains Eisenhämatoxylin. *Küster* (*Kiel*).

Wester, D. H., Studien über das Chitin (Arch. d. Pharm. Bd. CCXLVII, 1909, H. 4, p. 282).

Verf. untersuchte die Verbreitung des Chitins bei Pilzen und bediente sich dabei der Wisselinghschen Methode. Die Präparate werden in zugeschmolzenen, mit 60prozentiger Kalilauge gefüllten Röhren im Ölbad auf 160° erhitzt. Je nach Beschaffenheit der Objekte hat man die Temperatur des Bades bis 20 Minuten auf 160° zu halten. Nach dem Erkalten des Bades öffnet man die Röhrchen

und wäscht die Präparate mit Alkohol aus. Erst nachdem die Lauge entfernt ist, dürfen die Präparate mit Wasser in Berührung gebracht werden; andernfalls zerfließen sie oft. Das Auswaschen dauert mehrere Stunden. Ganz kleine Objekte wurden in Reagenzgläschen gewaschen; dann wurde der Bodensatz untersucht. — Auf dem Objektträger läßt man zu den Präparaten 0·2prozentige Jodlösung und — nachdem diese abgesaugt ist — einprozentige Schwefelsäure zufließen. Das in Chitosan umgewandelte Chitin färbt sich bei dieser Behandlung bekanntlich violett.

Enthalten die Präparate so viel Farbstoff, daß die Violettfärbung des Chitosans nicht deutlich zu erkennen ist, so entfärbt man sie mit verdünnter Chromsäurelösung, warmer verdünnter Kalilauge (etwa 5 Prozent) oder namentlich mit Chlorwasser (etwa 3prozentig).

Küster (Kiel).

Mortensen, M. L., Versuche über die Giftwirkung von Kobalt-Salzen auf Aspergillus niger bei Kultur auf festen und flüssigen Medien (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 2, Bd. XXIV, 1909, No. 18/22, p. 521).

Aus dem Inhalt der Arbeit sei hervorgehoben, daß gepulvertes Glas giftig auf Aspergillus wirkt, wenn es sich um gewöhnliches Glasfabrikat handelt. Pulver von Jenenser Glas hat diese Wirkung nicht.

Küster (Kiel).

Lewis, J. F., The life history of Griffithsia Bornetiana (Ann. of Bot. vol. XXIII, 1909, no. 92, p. 639—690).

Für das Fixieren erwies sich Flemmingsche Lösung (schwächere Modifikation) als sehr günstig; das Material wurde eine bis 10 Stunden mit dem Fixiermittel behandelt. Zum Färben diente insbesondere Heidenhains Hämatoxylin (2 Stunden in Alaun-, 4 Stunden in Hämatoxylinlösung, hiernach Eosin in Gewürznelkenöl). — Schwierig war es, hinreichend zahlreiche Mitosen aufzufinden. Am besten bewährte sich Material, das zwischen 11 und 12 Uhr nachts gesammelt und an Ort und Stelle fixiert worden war.

Küster (Kiel).

Davis, Br. M., Cytological studies on Oenothera I. Pollen development of Oenothera grandiflora (Ann. of Bot. vol. XXIII, 1909, no. 92, p. 551—571).

Antheren von Oenothera befriedigend zu fixieren gelang mit folgender Mischung:

Chromsäure, einprozentig	25	cc
Eisessig, 10prozentig	20	„
Osmiumsäure, einprozentig	10	„
Wasser	45	„

In dieser Lösung bleiben die Objekte 2 bis 4 Stunden, dann kamen sie auf 20 Stunden in eine ähnliche, aber osmiumfreie Mischung. Auf diese Weise gelingt es, sich die guten Wirkungen der Osmiumsäure zu sichern, ohne die starke Schwärzung der Objekte fürchten zu müssen. Leichte Schwärzung entfernt man durch rasche Behandlung der Schnitte mit einer schwachen Lösung von Wasserstoffsuperoxyd in 70prozentigem Alkohol.

Folgendes Fixiermittel gab ebenfalls gute Resultate:

Chromsäure, einprozentig	40	cc
Eisessig, 10prozentig	40	„
Wasser	20	„

Die kleinen Kerne ließen sich mit Eisenhämatoxylin gut färben.

Küster (Kiel).

Kusano, S., A contribution to the cytology of Synchytrium and its hosts (Bull. of the college of Agricult. Tokyo Imp. Univ. vol. VIII, 1909, No. 2, p. 79—147).

Verf. fixierte sein Material (Synchytrium Puerariae auf Pueraria Thunbergiana und S. decipiens auf Amphicarpaea Edgeworthii var. japonica) in Flemmingscher Lösung oder Keisers Sublimateisessig sogleich nach dem Einsammeln oder nach mehrstündigem Aufenthalt in einer feuchten Kammer bei 20 bis 25° C. Material der letzten Art lieferte viel karyokinetische Teilungsfiguren.

Gefärbt wurde meist nach Flemming oder mit Heidenhains Eisenhämatoxylin, gelegentlich mit Jodgrünfuchsin. *Küster (Kiel).*

Neue Literatur.

1. Lehr- und Handbücher.

Fusari, R., Trattato elementare di Istologia generale e di Tecnica istologica. 8 tavv. e 224 figg. Torino, Unione tip. edit. torinese. XII, 436 pp. 8⁰.

Schönichen-Kalberlah, B. Eyferths einfachste Lebensformen des Tier- und Pflanzenreichs. Naturgeschichte der mikroskopischen Süßwasserbewohner. Vierte, vielfach verbesserte und erweiterte Auflage von W. Schönichen. Mit über 700 Abbild. auf 16 Tfln. in Lichtdruck nach Zeichnungen von A. Kalberlah, zahlreichen Abbild. im Text u. 2 Porträts; VIII u. 584 pp. Braunschweig (B. Göritz) 1909. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 474.)

2. Mikroskop und mikroskopische Apparate.

a. Kataloge.

Zeiß, C., Mikroskope und mikroskopische Hilfsapparate (Auszug aus dem Hauptkatalog V). [„Mikro 261".] Jena 1909.

C. Baker's Special Catalogue. London 1909.

b. Neue Mikroskope.

Nachet, Microscope pour déterminer les taches de sang visibles ou invisibles récentes ou anciennes sur un corps opaque (Compt. Rend. Assoc. Anat. 10me réun. Marseille 1908, p. 201—203).

BAKER's new model D. P. H. Microscopes (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 4, p. 512; vgl. C. BAKER's Special Catalogue 1909).

BAKER's new model histological microscope (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 4, p. 514; vgl. C. BAKER's Special Catalogue 1909).

c. Zeichenapparate.

(**Imboden, W.,**) Simple drawing and projection apparatus (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 4, p. 519; vgl. Journ. Quekett Microsc. Club vol. X, 1909, p. 353—356).

(**Riley, W. A.,**) Simplified apparatus for drawing with the aid of the projection microscope (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 4, p. 514; vgl. Science vol. XXIX, 1909, p. 37—38).

HENSOLDT and SONS' new angle prisms for 90°, 180°, 45° and Roof-prism (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 4, p. 518; vgl. HENSOLDTS u. Söhne, Wetzlar, Katolog).

d. Ultramikroskop.

Barnard, T. E., Ultra-microscopic Vision (Nature vol. LXXIX, 1909, p. 489—490).

e. Verschiedenes.

Abel, M., Betriebsbuchführung und Selbstkostenberechnung in optisch-mechanischen Betrieben (Deutsche Mechaniker-Zeitg. 1909, H. 15, p. 141 ff.).

Stoltz, Mikroskopie für die Schule und für Anfänger (Mikrokosmos Bd. III, 1909/10, H. 7, p. 125).

Zschokke, W., Die Homogenität des optischen Glases (Zeitschr. f. Instrumentenkde. Bd. XXIX, 1909, H. 9, p. 286).

Vorschlag für eine internationale Lichteinheit. Zirkular No. 15 des Bureau of standards in Washington vom 20. Mai 1909. (Vgl. Zeitschr. f. Instrumentenkde. Bd. XXIX, 1909, p. 264.)

3. Mikrophotographie und Projektion.

Davis, W. S., Photo-micrography with simple apparatus (Photo-Era, 1908, p. 20).

Garjeanne, A. J. M., A home-made photo-micrographic apparatus (The photogr. Monthly Bd. XVI, p. 28).

(**Imboden, W.,**) Simple drawing and projection apparatus (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 4, p. 519: vgl. Journ. Quekett Microsc. Club vol. X, 1909, p. 353–356).

(**Jullien, J.,**) Economical monochromatic filters (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 4, p. 522; vgl. Bull. Soc. Zool. de Genève 1908, p. 104).

(**Jullien, J.,**) Practical photo-micrography (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 4, p. 523; vgl. Bull. Soc. Zool. de Genève 1908, p. 101—104).

Marktanner-Turneretscher, G., Wesentlichere Fortschritte auf dem Gebiete der Mikrophotographie und Projektion (Jahrb. f. Photogr. u. Reproduktionstechnik für d. Jahr 1909, herausgegeb. v. J. M. Eder).

Milne, J. R., A special form of photographic camera for recording the readings of the scales of scientific instruments (Proc. Roy. Soc. Edinburgh vol. XXIX, 1908/09, p. 176—181).

Monpillard, M., Nouveau dispositif pour la microphotographie instantanée de M. Briaudeau à Nantes (Bull. de la Soc. franç. de Photogr. sér. II, t. XXV, no. 3, p. 73).

Reid, J., Photography and the microscope; more particularly a method of calculating the correct exposure (The photogr. Journ. Bd. XLIX, p. 33).

(**Ries, J.,**) Kinematography of fertilisation and cell-division (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 4, p. 522; vgl. Arch. mikrosk. Anat. u. Entwicklungsgesch. Bd. LXXIV, 1909, p. 1—21).

(**Riley, W. A.,**) Simplified apparatus for drawing with the aid of the projection microscope (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 4, p. 514; vgl. Science vol. XXIX, 1909, p. 37—38).

Wiener, O., Über Farbenphotographie und verwandte naturwissenschaftliche Fragen (Ges. deutsch. Naturf. u. Ärzte Bd. I, 1908, p. 1—28).

4. Präparationsmethoden im allgemeinen.

Jacobsthal, E., Über intravitale Fettfärbung (Verhandl. d. d. pathol. Gesellsch. 13. Tagung 1909, G. Fischer, Jena, p. 380).

Jacobsthal, E., Der Objektträgerstempel (Zeitschr. f. biolog. Technik u. Methodik Bd. I, 1909, H. 3).

Masson, Note de technique microscopique (Bull. et Mém. Soc. anat. de Paris, Année LXXXIV, no. 3, p. 125—126).

Reid, E. E., Electrically controlled gas-regulator (Amer. Chem. Journ. vol. XLI, 1909, p. 148—152).

Vastarini-Cresi, G., Ulteriori ricerche sopra un nuovo metodo di colorazione del glicogeno nei tessuti (Atti d. R. Accad. med.-chir. di Napoli 1909, no. 1, 21 pp.).

Leitz' base sledge microtome (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 4, p. 529; vgl. E. Leitz' Special Catalogue 1909).

5. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

a. Niedere Tiere.

Fischel, A., Untersuchungen über vitale Färbung an Süßwassertieren insbesondere bei Cladoceren. Leipzig (W. Klinkhardt) 1909. 5 M.

Freiling, H. H., Duftorgane der weiblichen Schmetterlinge nebst Beiträgen zur Kenntnis der Sinnesorgane auf dem Schmetterlingsflügel und der Duftpinsel der Männchen von Danais und Euploea (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCII, 1909, p. 210—290 m. 17 Figg. u. 6 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 475).

Gariaeff, W., Zur Histologie des zentralen Nervensystems der Cephalopoden. 1. Subösophagealganglionmasse von Octopus vulgaris (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCII, 1909, p. 149—186 m. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 476).

Martini, E., Studien über die Konstanz histologischer Elemente. 1. Oikopleura longicauda (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCII, 1909, p. 563—626 m. 22 Figg. u. 3 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 476).

Rühlemann, H., Über die Fächerorgane, sogenannte Malleoli oder Raquettes coxales, des vierten Beinpaares der Solpugiden (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCI, 1908, p. 599—639 m. 8 Figg. u. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 474).

b. Wirbeltiere.

Amato, A., Die Ganglienzelle bei der Insolation (Virchows Arch. Bd. CXCV, 1909, H. 3, p. 545—555 m. 1 Tfl. u. 1 Fig. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 486).

Axhausen, G., Über die bei der Luft- und Gasfüllung des Knochengewebes auftretenden Phänomene und ihre Deutung, insbesondere über die sogenannten „Gitterfiguren" (Virchows Arch. Bd. CXCIV, 1908, H. 3, p. 371—438 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 483).

(**Corin** a. **Stokes**,) Detection of seminal stains on clothing (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 4, p. 535; vgl. La Presse médic. 1909, p. 120; Med. Record 1909, p. 207).

Golodetz, L., u. **Unna, P. G.**, Zur Chemie der Haut. II. Der mikrochemische Nachweis der Keratine durch Millons Reagenz (Monatshefte f. prakt. Dermatologie Bd. XLVII, 1908, p. 595—606 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 482).

Golodetz, L., u. **Unna, P. G.**, Zur Chemie der Haut. III. (Monatshefte f. prakt. Dermatologie Bd. XLVIII, 1909, p. 149—166 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 484).

Hamburger, C., Über das Färben lebender menschlicher Augen zu physiologischen und zu diagnostischen Zwecken (Berlin. klin. Wochenschr. Jahrg. XLVI, No. 30, p. 1402—1406).

Hendricks, K., Zur Kenntnis des gröberen und feineren Baues des Reusenapparates an den Kiemenbögen von Selache maxima Cuvier (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCI, 1908, p. 427—509 m. 5 Figg. u. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 481).

Laffont, A., Recherches sur l'origine des grains de kératohyaline (Bibliogr. anat. t. XVIII, 1909, fasc. 4, p. 209—214 av. 2 figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 485).

(**Leitch, A.**,) Rapid examination of tumours for diagnostic purposes (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 4, p. 530; vgl. Brit. Med. Journ. vol. I, 1909, p. 1226—1227).

Marchand, F., Untersuchungen über die Herkunft der Körnchenzellen des Zentralnervensystems (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XLV, 1909, H. 2, p. 161—196 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 488).

Merkel, Fr., Betrachtungen über die Entwicklung des Bindegewebes (Anat. Hefte, H. 115 [Bd. XXXVIII, H. 2], 1909, p. 323—392 m. 6 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 477).

Meyer, P., Zur Technik der Markscheidenfärbung (Neurol. Zentralbl. Jahrg. XXVIII, 1909, No. 7, p. 353—354; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 488).

Nowikoff, M., Untersuchungen über die Struktur des Knochens (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCII, 1909, p. 1—50 m. 1 Fig. u. 4 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 479).

Pflugk, A. v., Die Fixierung der Wirbeltierlinsen, insbesondere der Linse des neugeborenen Menschen (Klin. Monatsbl. f. Augenheilkde. Jahrg. XLVII, p. 1—14 m. 1 Tfl. u. 6 Figg.).

(**Ponder, C.,**) Examining living leucocytes in vitro (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 4, p. 524; vgl. Proc. Cambridge Phil. Soc. vol. XV, 1909, p. 30—33).

Regaud, Cl., Sur un procédé de coloration de la myéline des fibres nerveuses périphériques et sur certaines analogies de réactions microchimiques de la myéline avec les mitochondries (C. R. Acad. sciences Paris t. CXLVIII, 1909, no. 13, p. 861—862; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 490).

Regaud, C. L., Sur les mitochondries de l'épithélium séminal. III. Technique, variations histochimiques (C. R. Soc. Biol. Paris t. LXV, 1908, no. 37, p. 660—662; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 491).

(**Twort, F. W.,**) New method of isolating human tubercle bacilli (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 4, p. 526; vgl. Proc. Roy. Soc., Ser. B, vol. LXXXI, 1909, p. 248).

Ugdulena, G., Über die Färbbarkeit der Achsenzylinder peripherer Nerven bei primärer und sekundärer Degeneration nach der Ernstschen Methode der Nervenfärbung (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XLV, 1909, H. 2, p. 245—252 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 487).

---

c. Mikroorganismen.

Babes et Feodorasco, Sur deux microbes intermédiaires entre le paratyphique B et le bacille typhique (C. R. Soc. de Biol. vol. LXVI, 1909, p. 787; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 493).

Beaurepaire Aragão, H. de, Über eine neue Amöbenart, Amoeba diplomitotica. Beitrag zum Studium der Kernteilung bei den Amöben [Sobre a Amoeba diplomitotica n. sp. Contribuição para o estudo da divizão nuclear nas amebas] (Memorias do Instituto Oswaldo Cruz t. I, facic. 1, Rio de Janeiro 1909, p. 33).

Beaurepaire Aragão, H. de, Two new species of Plasmodium, Pl. diploglossi and Pl. tropiduri. A contribution to the study of the endoglobular parasites of the lizards [Contribuição para o estudo dos parazitas intraglobulares dos lacertidas. Plasmodium diploglossi n. sp. Plasmodium tropiduri n. sp.] (Memorias do Instituto Oswaldo Cruz t. I, facic. 1, Rio de Janeiro 1909, p. 44).

Berka, F., Über das Verhältnis der zur Darstellung gelangenden Tuberkelbazillen bei Sputumfärbemethoden (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. LI, 1909, H. 4, p. 456—458; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 499).

Calderini, A., Untersuchungen über Anaërobenzüchtung nach dem Tarozzischen Verfahren (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. LI, 1909, H. 6, p. 681; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 499).

Chaussé, Méthodes de coloration communes à l'actinobacillose, l'actinomycose et la botryomycose (Ann. de l'Inst. Pasteur vol. XXIII. 1909, p. 502; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 495).

Ciuca et Fenea, Recherches sur le diagnostique post mortem du charbon bactéridien par l'examen bactériologique des matières fécales (C. R. Soc. de Biol. vol. LXVII, 1909, p. 301; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 494).

Dopter, Etude de quelques germes isolés du rhinopharynx, voisins de méningocoque [paraméningocoques] (C. R. Soc. de Biol. vol. LXVII. 1909, p. 74; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 495).

(**Duval, C. M.**, a. **Todd, J. L.**,) Cultivation of Spirochaeta Duttoni (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 4, p. 524; vgl. Lancet vol. I, 1909, p. 834—835).

Federolf, Über den Nachweis des Bacterium coli im Wasser durch die Fällungsmethode (Arch. f. Hygiene Bd. LXX, 1909, H. 4, p. 311; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 498).

Feoktistow, A., Eine neue Methode zur Gewinnung von Reinkulturen aus ganzen Organen und Gewebsteilen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. LI, 1909, H. 6, p. 685—687; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 500).

Haserodt, H., Neue Methoden zum Nachweis von Tuberkelbazillen im Sputum (Hygien. Rundschau Jahrg. XIX, 1909, H. 12, p. 699; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 497).

Koch, A., Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungs-Organismen (Jahrg. XVII, 1906). Leipzig (S. Hirzel) 1909; VIII u. 624 pp. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 493.) 24 M.

Levaditi et Stanesco, Culture de deux Spirochètes de l'homme [Sp. gracilis et Sp. balonitidis] (C. R. Soc. de Biol. vol. LXVII, 1909, p. 188; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 494).

Martini, E., The development of Piroplasma and Trypanosoma of cattle in artificial culture media (Philipp. Journ. of Science B, Med. Sc. vol. IV, no. 3, Manila 1909, p. 147—170).

Noc, Recherches sur la dysentérie amibienne en Cochinchine (Ann. de l'Inst. Pasteur vol. XXIII, 1909, p. 177; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 496).

Proca, Sur une coloration différentielle des bactéries mortes (C. R. Soc. de Biol. vol. LXVII, 1909, p. 148; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 494).

Proca et Danila, Sur une coloration différentielle des spores tuées (C. R. Soc. de Biol. vol. LXVII, 1909, p. 307; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 495).

Prowazek, S. v., Taschenbuch der mikroskopischen Technik der Protistenuntersuchung. Zweite, umgearb. Aufl. Leipzig (Ambrosius Barth) 1909; 87 pp. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 499.) 2·50 M.

Stephens, J. W. W., Cultures of Amoebae (Rep. 78. Meeting British Assoc. Dublin 1908, p. 741).

Wasielewski u. **Hirschfeld**, Zur Technik der Amöbenuntersuchung (Hygien. Rundschau Jahrg. XIX, 1909, H. 16, p. 925; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 497).

d. Botanisches.

(**Bongiovanni, C.,**) Staining vegetable phosphorus compounds (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 4, p. 532; vgl. Staz. speriment. agrar. ital. vol. XLII, 1909, p. 116—120; Journ. Chem. Soc. vol. XCV/XCVI, 1909, p. 512).

Cavazza, L. E., I Tannini. Riassunto di studi e ricerche sperimentali. Bologna (Paolo Cuppini) 1909. 60 pp.

Cavazza, L. E., Il Tannino nella concimazione della vita (Piacenza 1906).

Davis, Br. M., Cytological studies on Oenothera. I. Pollen development of Oenothera grandiflora (Ann. of Bot. vol. XXIII, 1909, no. 92, p. 551—571; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 502).

Davis, W. B., Method of making photo-micrographs (Bryologist. vol. XII, 1909, fasc. 3. p. 47).

Fluri, M., Der Einfluß von Aluminiumsalzen auf das Protoplasma (Flora Bd. XCIX, 1908, H. 2, p. 81—126; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI. 1909, p. 501).

Karsten, G., u. **Oltmanns, Fr.,** Lehrbuch der Pharmakognosie. 2., vollständig umgearb. Auflage von G. Karstens Lehrbuch der Pharmakognosie. Mit 512 zum Teil farbigen Abbild. im Text. 358 pp. Jena (G. Fischer) 1909. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 500.) 9 M., geb. 10 M.

Kusano, S., A contribution to the cytology of Synchytrium and its hosts (Bull. of the college of Agricult. Tokyo Imp. Univ. vol. III, 1909, no. 2, p. 79—147; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 503).

Lewis, J. F., The life history of Griffithsia Bornetiano (Ann. of Bot. vol. XXIII, 1909, no. 92, p. 639—690; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI. 1909, p. 502).

Möbius, M., Botanisch-mikroskopisches Praktikum für Anfänger. Zweite veränd. Aufl. Mit 15 Abb. Berlin (Gebr. Bornträger) 1909. geb. 3·20 M.

Mortensen, M. L., Versuche über die Giftwirkung von Kobalt-Salzen auf Aspergillus niger bei Kultur auf festen und flüssigen Medien (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 2, Bd. XXIV, 1909, No. 18/22, p. 521; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 502).

Sauvageau, C., Sur les cultures cellulaires d'algues (Compt. Rend. Soc. Biol., séance réunion biol. de Bordeaux 7 avril 1908, p. 695; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 501).

Schleichert, F., Anleitung zu botanischen Beobachtungen und pflanzenphysiologischen Experimenten. 7. Aufl. Langensalza 1909. gr. 8°. 212 pp., 77 Figg.

Svedelius, N., Über den Bau und die Entwicklung der Florideengattung Martensia (Kungl. Svenska Vetenskaps Acad. Handl. Bd. XLIII, 1908, No. 7; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 501).

Wester, D. H., Studien über das Chitin (Arch. d. Pharm. Bd. CCXLVII. 1909, H. 4, p. 282; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 501).

e. Mineralogisch-Petrographisches. — Physikalisches.

(**Benedicks, C.**,) Illumination in high-power photomicrography (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 5, p. 674; vgl. Metallurgie t. VI, 1909, p. 320—323).

(**Davis, W. H.**,) Industrial application of the microscope (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 5, p. 674; vgl. Metallurgie t. V, 1908, p. 734).

Endell, K., Zur quantitativen Bestimmung der Kolloïde in Tonen (Zeitschr. f. Chemie u. Industrie d. Kolloïde Bd. V, 1909, H. 5, p. 244—245).

Halle, B., Ein Vorschlag zur Aufstellung einer neuen Härteskala für Kristalle (Deutsche Mechan.-Zeitg. 1909, H. 9, p. 81).

Autorenregister.

Das vorliegende Heft (XXVI, 3) enthält Referate über die Arbeiten folgender Autoren:

Inhalt.

Der nächste Beitrag von Prof. Dr. W. Gebhardt „Aus optischen und mechanischen Werkstätten III" wird im nächsten Jahrgange erscheinen.

Nachdruck verboten. Übersetzungsrecht vorbehalten.

Etwaiger Nachdruck aus dieser Zeitschrift findet ohne Erlaubnis und ohne Wissen von Herausgeber und Verleger statt.

Zur Färbung des Glykogens.

Von

P. Mayer.

Den Anlaß zur Beschäftigung mit obigem Thema bot mir eine kleine Arbeit von Vastarini-Cresi[1], die vor nunmehr 2 Jahren erschien und eine neue Methode brachte. Da bisher kein Referat über sie in dieser Zeitschrift erschienen ist, so gebe ich zunächst von ihr eine kurze Darstellung.

Vastarini beobachtete bei der Färbung elastischer Fasern mit Weigerts Resorcinfuchsin zufällig, daß sich das Glykogen hellrot färbt, ging dieser Erscheinung sorgfältig nach und fand, daß die Färbung nicht auf der Gegenwart des Fuchselins (nach Fischers Nomenklatur) beruht, sondern auf der einer kleinen Menge freien Resorcinfuchsins. Daher ist der Zusatz des Eisenchlorids überflüssig, und man braucht nur 2 Prozent Fuchsin und 4 Prozent Resorcin in Alkohol von 94 Prozent zu lösen, einige Minuten kochen zu lassen und nach dem Erkalten 4 Prozent Salzsäure zuzufügen. Immerhin empfiehlt Vastarini nicht diese Lösung, sondern ein Gemisch von ihr und Weigerts Resorcinfuchsin zu gleichen Teilen, weil dann die Mastzellen und das Bindegewebe nicht in demselben Tone wie das Glykogen, sondern violett gefärbt werden, während letzteres amaranthrot wird. Ähnlich tingiert eine analoge Lösung des Grüblerschen Kresofuchsins.

[1]) Vastarini-Cresi, G., Un nuovo metodo di colorazione del glicogeno nei tessuti (Atti Accad. Med. Chir. Napoli Anno XLI, 1907, p. 350—357, tav.). Bei der Besprechung dieser Arbeit habe ich schon einiges aus der neueren Publikation (s. unten) hinzugefügt.

Vastarini macht weiter darauf aufmerksam, daß man durchaus nicht, wie bei der Methode von Best, nur Celloïdinschnitte verwenden darf, sondern daß Paraffinschnitte sich genau so gut färben. Allerdings dürfen sie nicht aufgeklebt sein — weder mit Eiweiß nach Mayer noch selbst mit Alkohol nach Gaule —, weil sich dann das Glykogen nicht scharf tingieren läßt. Um nun die Handhabung der unaufgeklebten Schnitte für diese weniger gefährlich zu machen, überzieht sie Vastarini vorher mit Kollodium (ein Prozent) und schafft nun erst das Paraffin durch Xylol fort.

Zum Fixieren der Gewebe sind natürlich nur absoluter Alkohol oder stark alkoholische Gemische (Formol 10 Prozent, Eisessig 5 Prozent in Alkohol von 94 Prozent; Sublimat und Eisessig je 5 Prozent in Alkohol von 70 Prozent; Gemisch von Carnoy und van Gehuchten) zulässig.

Ganz vor kurzem ist von Vastarini die zweite Publikation[1] über den nämlichen Gegenstand erschienen. Sie bringt aber nichts wesentlich Neues, sondern betont nur einzelne Punkte der früheren schärfer und gibt zugleich eine dankenswerte Kritik der Methoden anderer Autoren, mit der ich im allgemeinen übereinstimme[2]. Seine eigene Methode bezeichnet er jetzt als die mit Rosanilinchlorhydrat und hebt besonders hervor, daß zum Gelingen der Färbung der Alkohol aus dem Gemisch allmählich verdunsten müsse, so daß diese die Konsistenz eines dünnen Sirups annehme; man solle daher die Uhrschale mit dem Schnitte und dem Gemisch nur leicht gegen den Staub bedeckt halten. Der Zusatz des Resorcins zur Lösung sei insofern nützlich, als es die Färbung beschleunige. Nach wie vor läßt Vastarini seine Methode nur für unaufgeklebte Paraffinschnitte gelten[3]. Er gibt ferner an, daß die Färbung in hartnäckigen

[1]) Vastarini-Cresi, G., Ulteriori ricerche sopra un nuovo metodo di colorazione del glicogeno nei tessuti (Atti Accad. Med. Chir. Napoli Anno XLIII, 1909, p. 109—128).

[2]) Creightons Methode (s. Lee u. Mayer, Grundzüge, 3. Aufl., 1907, p. 315) mit Methylviolett habe auch ich ohne günstiges Resultat probiert; vielleicht benutzte C. einen Farbstoff besonderer Herkunft, der weder mir noch Vastarini zur Verfügung stand.

[3]) Dies steht auch für mich fest. Balli [Il metodo Weigert per le fibre elastiche nelle ricerca del glicogeno (Boll. Soc. Med. Chir. Modena Anno XI, 1908)] hingegen, der unabhängig von Vastarini und nur mit Weigerts Resorcinfuchsin arbeitete, hat in aufgeklebten Paraffin- oder Celloïdinschnitten das Glykogen gefärbt erhalten und sagt nichts vom

Fällen bis zu 48 Stunden erfordere, aber durch Warmhalten des Gemisches bei 28 bis 32° C sich wesentlich rascher vollziehe. Zur Gegenfärbung der Gewebe können Lichtgrün oder Indigkarmin dienen, beide aber (in schwacher alkoholischer Lösung) erst nach der Färbung des Glykogens. Verwendet man dagegen Kresofuchsin, so liefert ein Zusatz von Hämatoxylin zu ihm eine Tinktion der Kerne. Die Formel für dieses Gemisch lautet: Kresofuchsin 1 g, Salzsäure 4 g, Alkohol von 94 Prozent 300 cc, Hämatoxylin 1 g; VASTARINI möchte nach mündlicher Mitteilung die Kernfärbung auf die Gegenwart von etwas Eisen im Kresofuchsin zurückführen.

Diese neuen Methoden habe ich teils an Leber von Canis, die ich in Paraffin eingebettet von VASTARINI erhielt, teils an den Organen von Helix und Limax, die ich selber in absolutem Alkohol fixierte, teils an Placenta von Homo — ich verdanke Stücke davon in Paraffin der Güte des Dr. P. Poso — geprüft und bin dabei zu folgenden Resultaten gekommen. Zum Vergleiche diente mir stets der Nachweis des Glykogens durch Jodjodkalium entweder in der bekannten Art oder nach der Modifikation von KATO[1].

VASTARINIS Methode färbt zweifellos das Glykogen scharf und stark; die roten Granula oder Schollen heben sich von dem fast ungefärbten Grunde sehr deutlich ab. Die Präparate sind jedenfalls viele Monate lang, wahrscheinlich jahrelang haltbar. Nur hat mir zuweilen die Methode aus unbekannten Gründen versagt. Ziemlich unangenehm ist es, daß man eine Lösung in starkem Alkohol benutzen muß, die mit Vorliebe an den Wänden der Glasschälchen in die Höhe kriecht und sich hier durch Verdunstung des Alkohols konzentriert[2]. Da man nun die Schnitte nur einzeln, unaufgeklebt

---

allmählichen Verdunsten des Alkohols. Vielleicht erklären sich diese Differenzen durch die Verschiedenheit der Objekte.

[1]) KATO, K., Beitrag zur Frage des mikrochemischen Nachweises des Glykogens (Arch. f. gesamte Phys. Bd. CXXVII, 1909, p. 125—142). Diese Methode ist hübsch ausgedacht, mag auch in schwierigen Fällen mehr leisten als die gebräuchliche, hat mir aber keine besseren Resultate gegeben als diese. Zwar ist es ganz gut möglich, daß das Jod bei seiner Abscheidung aus dem Jodkalium durch das Ferricyankalium eine größere Affinität zum Glykogen zeigt, als wenn es bereits in Jodkalium gelöst darauf einwirkt, aber es wird ja auch nach KATOS Methode nicht im Glykogen selbst frei, sondern tritt von außen herzu, genau wie nach der gewöhnlichen Methode.

[2]) LUBARSCH beurteilt in der zweiten Auflage der Enzyklopädie der mikroskopischen Technik — die Aushängebogen verdanke ich der Güte

färben kann, so ist es fast unmöglich dabei die Beschmutzung der Finger mit dem recht hartnäckigen Fuchsin zu vermeiden. Ich habe daher allerlei Versuche mit Lösungen in schwächerem Alkohol angestellt, aber vergeblich; nicht besser ist es Vastarini ergangen. Jenen Übelstand muß man daher in den Kauf nehmen; ferner natürlich den, daß beim Auswaschen des überschüssigen Farbstoffes relativ sehr viel Alkohol von 90^0 oder 96^0 verbraucht wird.

Die bekannte Methode von Best[1] krankt an dem Fehler, daß sie allzu kompliziert ist: nicht nur ist die Stammlösung umständlich zu bereiten, sondern auch das daraus herzustellende Gemisch ist nur einige Tage haltbar. Ich habe lange Zeit versucht, sie einfacher zu gestalten, aber umsonst. Daß sie nur für Celloïdinschnitte zu gebrauchen sei und für Paraffinschnitte lediglich, wenn man nach Arnold[2] diese auf dem Objektträger mit Celloïdin überzieht, trifft durchaus nicht zu: ich habe sogar aufgeklebte, mit Xylol entparaffinierte Schnitte gefärbt, und Vastarini sowie Lubarsch machen ähnliche Angaben; letzterer allerdings mit einiger Reserve. Wesentlich besser wurde dabei das Resultat, wenn die Kerne vorher mit Hämastrontium[3] gefärbt waren. Leider hat sich in unserem Klima die Stammlösung, die nach Best[4] immerhin bis etwa 2 Monate gut bleiben soll, schon nach reichlich einer Woche nicht mehr als un-

---

von Prof. R. Krause — die Methode weniger günstig, tut sie auch gar kurz ab; offenbar hat er nicht gewußt, daß zum Gelingen der Färbung der Alkohol allmählich verdunsten muß. Dies ist auch nach meinen Erfahrungen allermeist unerläßlich. Natürlich geraten so die Schnitte zuletzt in recht starke Salzsäure, aber das scheint ihnen nicht zu schaden.

[1]) Lubarsch nennt sie nicht nur die „Bestfärbung“ — übrigens ein bedenkliches Deutsch —, sondern hält sie auch für die weitaus beste. Er gibt als neu eine eigentümliche Prozedur an: Einbettung des Objektes in Celloïdin, Entfernung des Celloïdins durch Ätheralkohol, definitive Einbettung in Paraffin; die Resultate seien ebenso gut wie bei direkter Einbettung in Celloïdin, also besser als bei direkter in Paraffin.

[2]) Arnold, J., Zur Morphologie des Leberglykogens und zur Struktur der Leberzelle (Arch. Path. f. Anat. Bd. CXCIII, 1908, p. 176). Auch Arnold macht darauf aufmerksam, daß Bests Karmin nicht nur das Glykogen färbt, sondern nebenher allerlei andere Gebilde. Fränkel (München. med. Wochenschr. Jahrg. LV, 1908, p. 2634) benutzt sogar das Bestsche Gemisch zur Tinktion des Fibrins.

[3]) Nach der Tinktion sind die Schnitte erst tüchtig mit saurem, dann mit neutralem Alkohol auszuwaschen; sie bläuen sich im Karmin von selber wieder.

[4]) Best, F., Über Karminfärbung des Glykogens und der Kerne (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXIII, 1906, p. 319).

verändert erwiesen: bei der Mischung mit Methylalkohol und Ammoniak fiel Karmin aus, und so dauerte die Färbung der Schnitte wesentlich länger als zu Anfang, war auch nicht so präzis. Vastarini scheint es ähnlich ergangen zu sein: „la soluzione colorante si conserva inalterata per troppo breve tempo.“

Ehe ich nun zur Beschreibung einer neuen Methode schreite — ohne eine solche geht es natürlich nicht ab — möchte ich erwähnen, daß meine zahlreichen Versuche, die Färbung des Glykogens mit Jod haltbar zu gestalten, fruchtlos verlaufen sind. Meinen Vorgängern ist es nicht anders ergangen. Dagegen berichtet neuerdings Gage[1] von besserem Erfolge: er klebt die Paraffinschnitte von Material, das direkt in 95prozentigem Alkohol (mit etwas Jod und Essigsäure) fixiert ist, mit mittelstarkem, ebenfalls Jod (nebst Jodkalium und Chlornatrium) enthaltendem Alkohol auf und meint, das Glykogen sei nun „for an undefinite period“ darin festgelegt. Noch besser aber entferne man das Paraffin aus den Schnitten durch Xylol und bediene sich zum Einschlusse des gelben Vaselins (Umrandung des Deckglases mit Balsam oder Schellack); alsdann sei die Färbung mehrere Jahre lang haltbar[2]. Ich habe diese mir erst vor einigen Wochen bekannt gewordenen Angaben geprüft und hätte sie äußerst gerne bestätigt, denn wir wären ja so in den Besitz eines ungemein bequemen und einfachen Verfahrens gelangt. Leider ist das nicht der Fall: das Glykogen ist in den Präparaten nirgend so scharf begrenzt, wie es nach den anderen Methoden wird und momentan durch den einfachen Zusatz einer wässerigen Jodjodkaliumlösung zum ungefärbten Schnitte hervortritt. Das sagt Gage selber: „In most, if not in all, of the tissues which were quickly and thoroughly fixed the glycogen is by no means in granules, but appears as a homogeneous substance in the cells.“ Dies ist auch kein Wunder, denn das Glykogen wird durch den Zusatz von Jod leichter löslich, und da beim Aufkleben mit Alkohol während des Trocknens die Schnitte zuletzt doch genau genommen eine Zeitlang Wasser unter sich haben, so ist die Diffusion des Jodglykogens unvermeidlich. Besonders, wenn das Trockenwerden der Schnitte durch das Jodkalium und Chlornatrium noch erschwert wird. Ich kann daher dem Vorgehen Gages keinen Geschmack abgewinnen. Wenigstens müßte man die Schnitte

[1]) Gage, S. H., Permanent preparations of tissues and organs to show glycogen (Trans. Amer. Micr. Soc. vol. XXVIII, 1908, p. 203—205).

[2]) Oder des Balsams, aber ohne Deckglas; die Färbung sei dann über 6 Monate lang erhalten geblieben.

mit einer starken wässerigen Lösung von Chlornatrium und Jodjodkalium aufkleben und würde dann bessere Resultate erhalten.

Eigene Methode. Vor Jahr und Tag veröffentlichten Silbermann und Ozorovitz[1] in Bukarest eine Mitteilung über Eisengallustinten und gaben speziell eine Vorschrift zur Anfertigung einer sehr einfach zu bereitenden, haltbaren und nicht sauren Tinte. Ich stellte mir diese in der Hoffnung dar, einen Ersatz für das Kernschwarz zu finden, sah mich aber darin getäuscht, denn zur Kernfärbung ist sie nicht zu brauchen: sie tingiert zwar die Kerne präzis, aber zu schwach, und löst, obwohl sie nicht sauer reagiert, sondern eher etwas freies Ammoniak enthält, aus Kalkschwämmen die Nadeln auf. Dagegen zeigt es sich, daß sie unter den geeigneten Bedingungen das Glykogen nahezu elektiv färbt. Freilich ist gleich hier hervorzuheben, daß natürlich der schwarze Ton, den es annimmt, lange nicht so schön aussieht, wie der karminrote oder mehr violettrote, den es in den Gemischen von Best oder Vastarini erhält. Aber abgesehen hiervon, glaube ich doch die neue Methode empfehlen zu können, da sie vor den beiden genannten — und dies sind die einzigen, die zurzeit ernstlich in Frage kommen — manches voraus hat.

Silbermann und Ozorovitz lösen 7·5 g kristalliertes Eisenchlorid und 7 g kristallisierte Gallussäure unter Erhitzen in 100 cc Wasser und geben dazu nach dem Erkalten 15 cc konzentriertes Ammoniak. Hierbei fällt zunächst die neue Verbindung ganz aus, löst sich aber im Überschusse des Ammoniaks wieder. Man filtriert, setzt 140 cc Alkohol von 90 Prozent zu, filtriert das Präzipitat ab, wäscht es erst mit etwa 50prozentigem, dann mit etwa 60prozentigem, zuletzt mit 90prozentigem Alkohol und trocknet es. — Auf meine Veranlassung stellt die Firma Grübler & Hollborn dieses Pulver her. In kaltem Wasser ist es leicht löslich. In 50prozentigem Alkohol dagegen lösen sich, wie ich finde, noch keine 2 Prozent davon, und auch nur langsam; man tut also gut daran, 1 g der festen Substanz zunächst in 20 cc Wasser zu lösen, dann 30 cc 90prozentigen Alkohols zuzufügen und nach längerem Stehenlassen die Lösung entweder zu filtrieren oder vom Bodensatze klar abzugießen.

---

[1]) Silbermann, T., u. Ozorovitz, N., Zur Kenntnis der Eisengallustinten usw. (Bull. Soc. Sc. Bucarest Anul XVII, 1908, p. 43—57). Die Vorschrift zur Gewinnung des „ammoniumoxyferrigallussauren Ammoniums“, das in 7- bis 8prozentiger Lösung direkt als Tinte zu gebrauchen ist, steht auf p. 45.

Will man sich die Tinte zur Glykogenfärbung selber bereiten, so verfahre man in folgender einfacherer Weise: 0·7 g Gallussäure werden in 5 cc Wasser gelöst; dazu setzt man erst 1·5 g Liquor ferri sesquichlorati[1], dann nach sorgfältigem Mischen 1 cc Ammoniak und füllt zuletzt mit 50prozentigem Alkohol bis auf 100 cc auf. Das Ammoniak muß im fertigen Gemisch durch darüber gehaltenes feuchtes Lackmuspapier deutlich nachweisbar sein. Filtration unnötig; man gießt oder hebert die klare Flüssigkeit nach Bedarf vom unbedeutenden Bodensatz ab. Wie man sieht, ist die Tinte leicht herzustellen und sehr billig; aber auch das Färben der Schnitte bietet gar keine Schwierigkeiten dar. Entweder sind sie aufgeklebt[2], und dann kommen sie durch Xylol und die Alkohole in die Tinte[3] — oder sie sind es nicht, und dann löse ich vorher das Paraffin nicht auf, sondern bringe sie direkt in die Tinte, auf der sie schwimmen und sich je nach Umständen in einigen Minuten bis Stunden färben. In der Regel wird das Gewebe ein wenig mitgefärbt, indessen nicht so stark, daß das Glykogen nicht ganz deutlich hervorträte; will man dies aber vermeiden, so setzt man entweder der Tinte noch etwas Ammoniak[4] zu oder färbt das Gewebe, speziell die Kerne, vorher in Parakarmin, muß dann allerdings dieses gut mit Alkohol von 50 Prozent auswaschen, da sich sonst auf dem noch etwas sauren reagierenden Schnitte leicht die Tinte flockig niederschlägt. Nach dem Färben und guten Auswaschen mit 50prozentigem Alkohol wandern die aufgeklebten Schnitte durch die Alkohole und Xylol in Balsam oder direkt aus 80- bis 90prozentigem Alkohol in Euparal[5]; die unaufgeklebten noch im

---

[1]) Oder 0·7 g festes Eisenchlorid. Leider ist dies sehr hygroskopisch. Ich habe versucht es durch Ferrisulfat zu ersetzen, aber das Ergebnis befriedigte mich nicht recht.

[2]) Bei meinen Objekten bemerke ich keinen wesentlichen Unterschied zwischen den mit Wasser und den mit Alkohol (von 50 Prozent) aufgeklebten Schnitten: das Glykogen färbt sich stets gleich gut. Aber besser ist es jedenfalls, den Alkohol zu benutzen, obwohl sich die Schnitte dann nicht so gut strecken und glätten.

[3]) Diese zu verdünnen, ist nicht ratsam, denn die Färbung dauert dann sehr viel länger und wird nie so intensiv.

[4]) Statt des Ammoniaks habe ich allerlei andere Basen oder basisch reagierende Salze probiert, indessen ohne guten Erfolg. Allenfalls kann man etwas Lösung von Borax in 35prozentigem Alkohol zusetzen, aber die Gefahr liegt nahe, daß durch dieses wie überhaupt durch alle Salze die Eisenverbindung ausgefällt wird.

[5]) In Euparal ist Vastarinis Färbung nicht lange haltbar.

Paraffin durch diesen starken Alkohol entweder ebenfalls in Euparal oder, wenn es keine Dauerpräparate werden sollen, in Terpineol (s. nachstehenden Artikel).

Die Färbung ist, so weit meine Erfahrungen reichen, durchaus haltbar, hat sogar den hiesigen Sommer gut überstanden, und das will etwas heißen. Dagegen war ein Quantum Tinte aus dem Juni, das ohne Schutz vor Licht dastand, im November nicht mehr recht brauchbar, denn seine Farbe war vom Violettschwarz ins Braun übergegangen, und es färbte viel schwächer als vorher.

Und nun zu den Resultaten!

Bei sorgfältigem Vergleiche guter Präparate, die nach Vastarinis Methode tingiert sind, und analogen nach der meinigen gebe ich jenen den Vorzug, da in ihnen das Glykogen deutlicher hervortritt: die roten Körnchen sind, auch wenn sie übereinander liegen, leichter unterscheidbar als die schwarzen[1]. So weit ich aus eigener Anschauung urteilen darf, hat Vastarini recht, wenn er seine Methode der von Best vorzieht, denn diese liefert keine so satten Färbungen. Wenn ich trotzdem die meinige empfehle, so geschieht es wesentlich auf Grund ihrer Einfachheit und Zuverlässigkeit; ich verhehle mir dabei nicht, daß sie vielleicht, wenn es sich um die Entdeckung ganz geringer Mengen von Glykogen handelt, nicht zuverlässig genug ist, und erwarte das definitive Urteil über ihre Brauchbarkeit von kompetenterer Seite.

Zum Schluß möchte ich kurz auf die Vorgänge bei der Färbung des Glykogens eingehen. Inwieweit die mit Jod eine rein chemische ist, müssen die Chemiker beurteilen. Wahrscheinlich verhält sich in seiner Verbindung mit Jod das Glykogen ähnlich dem Amylum. Vastarini läßt bei seiner Methode die physikalischen Faktoren sicher eine große, vielleicht sogar die alleinige Rolle spielen. Wesentlich ist zwar sowohl hier als auch bei meiner Tinte und Bests Karmin die Gegenwart des Alkohols im Färbgemisch, aber wie mir scheint hauptsächlich deshalb, weil sich in wässerigen Gemischen das Glykogen lösen würde. Denn mit der wässerigen

---

[1]) Dies mag reineweg auf der Differenz in der Wirkung des Rot und des Schwarz auf unser Auge beruhen, nicht etwa darauf, daß die Tinte weniger scharf tingierte als das Fuchsin oder Karmin. Es wäre also kein Fehler der Methode, aber immerhin eine unangenehme Beigabe zu ihr. Die analoge Tinte aus Pyrogallussäure (statt der Gallussäure) und Eisenchlorid färbt zwar etwas mehr nach Rot hin, gibt aber sonst keine guten Resultate.

Lösung des SILBERMANNschen Tintensalzes färbt sich das Glykogen auch, falls die Lösung konzentriert genug ist, so daß es sich infolge des großen Salzgehaltes nicht löst, und falls durch Zusatz von Ammoniak die Mitfärbung der anderen Gewebteile verhindert wird. Ferner erschwert der Alkohol ebenfalls wohl nur die Bindung des Farbstoffes da, wo sie nicht erwünscht ist, besonders in den Zellkernen[1]. BEST will sich über die chemische Seite seiner Glykogenfärbung nicht näher auslassen, weil man die Zusammensetzung des Karmins nicht genauer kenne. In dieser Beziehung ist ja die Karminsäure unverdächtig, und da mag es interessieren zu erfahren, daß sich das Glykogen mit Ammoniumkarminat[2] sehr scharf färben läßt: eine etwa 2prozentige Lösung von Karminsäure in 70prozentigem Alkohol, mit Ammoniak im Überschusse versetzt, tingiert entweder nur das Glykogen oder, falls auch das Gewebe gefärbt wird, dieses doch in einem anderen Tone von Rot[3]. Man braucht den Schnitt nur mit 70prozentigem Alkohol auszuwaschen und die Färbung durch Übertragen des Präparates in 90prozentigem zu fixieren. Leider ist diese nicht so kräftig, daß sich die überaus einfache Methode für die Praxis eignen würde, aber theoretisch entbehrt sie nicht des Interesses. Nur will ich damit nicht etwa gesagt haben, daß es sich dabei um eine chemische Verbindung zwischen der Karminsäure und dem Glykogen handle.

Ein ähnlicher Effekt, wie ihn die Karminsäure liefert, war a priori von Brasilin und Hämatoxylin zu erwarten. In der Tat färben diese beiden Stoffe, analog in Lösung gebracht, das Glykogen ebenfalls. Speziell gilt dies vom Hämatoxylin oder Hämateïn, solange die Oxydation an der Luft bei Gegenwart des Ammoniaks[4]

---

[1]) Den gleichen Zweck hat nach VASTARINI in seinen Gemischen die Salzsäure.

[2]) Beileibe nicht mit dem fälschlich als karminsaures Ammoniak bezeichneten Ammoniakkarmin, sondern mit dem wirklichen Ammoniaksalze der Karminsäure! Die Lösung bleibt einige Monate lang gut.

[3]) Wird ein derartiges Präparat in Balsam gebracht und nur erwärmt, so verändert das Glykogen seine Farbe in die der Karminsäure, wird also heller rot. Auch reines Glykogen färbt sich mit Ammoniumkarminat, ferner mit Galleïn und mit der Tinte. Ich habe es in Wasser gelöst, mit Alkohol wieder ausgefällt, in Celloïdin suspendiert und in diesem geschnitten. Das Celloïdin färbt sich kaum mit.

[4]) Die Lösung muß noch schön karminrot, nicht schon braun aussehen. — BEST scheint auch die Brauchbarkeit des Hämatoxylins gefunden zu haben, geht aber nicht näher darauf ein.

nicht zu weit geht; bringt man nun den in neutralem Alkohol gut ausgewaschenen Schnitt in eine Lösung von Kupfersulfat in 50prozentigem Alkohol, so wird die Färbung haltbar gemacht, und die Glykogenkörner treten schön blau hervor. Aber auch das Galleïn (von GRÜBLER & HOLLBORN, entweder als Paste oder als Pulver) gibt, unter Zusatz von Ammoniak in 70prozentigem Alkohol gelöst, eine sehr präzise Färbung[1] des Glykogens, und zwar ziemlich lebhaft violett.

Einstweilen ist also der mikroskopische Nachweis des Glykogens nur möglich entweder durch saure Gemische (Jod, Kresofuchsin, Rosanilinsalze) oder durch alkalische (Tinte, Hämatoxylin, Karminsäure, Galleïn). Mit Ausnahme des Jods wirken alle diese Stoffe in der gewünschten Art lediglich in Alkohol, meist sogar nur in solchem von ganz bestimmter Stärke. Beispielsweise ist das Ammoniumkarminat in 90prozentigem Alkohol zur Glykogenfärbung nicht zu brauchen; von der Tinte löst sich bereits in 60prozentigem nicht mehr genug. Ob aber alle diese komplizierten Bedingungen darauf hinweisen, daß es sich in unserem Falle eher um eine physikalische als um eine chemische Färbung handelt, läßt sich, so scheint es mir, einstweilen nicht mit Sicherheit sagen.

---

[1]) Sie scheint haltbar zu sein, die Lösung hingegen nur für einige Tage: sie schlägt dann nach braun um, ist ja aber rasch neu gemacht. Auch Stärke in pflanzlichen Zellen hat sich mir mit Galleïn elektiv gefärbt. Vielleicht probiert ein Botaniker diese Methode genauer aus.

Neapel, Zool. Station, im Dezember 1909.

[Eingegangen am 13. Dezember 1909.]

Über ein neues Intermedium.

Von

P. Mayer.

Die bekannte Fabrik ätherischer Öle von Schimmel & Co. in Miltitz bei Leipzig bringt in ihrem Berichte vom April 1909 auf p. 143—145 eine tabellarische Übersicht der „Löslichkeitsverhältnisse der gebräuchlichsten Riechstoffe". Darin wird zwar nur die Löslichkeit in Alkohol von 96 Prozent und 70 Prozent, sowie in Glyzerin, Olivenöl und Paraffinöl angegeben, aber aus dieser Liste läßt sich doch einiges von Interesse für die Mikrotechnik gewinnen. Von den in ihr aufgeführten Substanzen (über 60) verträgt, soweit sie für uns überhaupt in Frage kommen können, am meisten Alkohol von 70 Prozent der Anisaldehyd (100 : 130), etwas weniger das Eugenol (100:110; das Nelkenöl wird nicht erwähnt) und noch weniger das Terpineol (100:60). Der Abstand zwischen den beiden letztgenannten Flüssigkeiten ist freilich nicht gering, indessen — und das ist die Hauptsache — das Terpineol hat vor dem Eugenol, das bekanntlich den Hauptbestandteil des Nelkenöls ausmacht, und vor diesem selbst mehrere gute Eigenschaften voraus und verdient daher wohl die Empfehlung, die ich ihm hiermit zuteil werden lasse.

Das flüssige Terpineol — das kristallisierte geht uns nichts an — zeichnet sich vor dem Nelkenöl in folgenden Punkten aus:

1) es ist und bleibt farblos, während auch das anfänglich wasserhelle Eugenol schon bald braun wird;

2) es hat nicht den unangenehmen, penetranten Geruch des Eugenols oder Nelkenöls, sondern riecht schwach nach Flieder;

3) es ist gegen Wasser im Alkohol zwar nicht so tolerant wie das Nelkenöl, verträgt sich aber mit 90prozentigem Alkohol; Schnitte oder Membranen lassen sich direkt aus diesem, zur Not selbst aus 80prozentigem darin überführen;

4) mit Benzol, Xylol usw. ist es in jedem Verhältnisse mischbar;

5) sein Preis ist auffällig niedrig: Schimmel & Co. liefern zurzeit das Kilo für 3 Mark, das Nelkenöl dagegen für 7 und das Eugenol für 11 Mark;

6) sein Brechungsindex ist wesentlich niedriger als der des Nelkenöls: nach freundlicher Mitteilung von SCHIMMEL & Co. beträgt er bei 20^0 1·481 bis 1·484, steht mithin dem von Rizinusöl nahe und ist etwas höher als der des Glyzerins. Es empfiehlt sich also unter Umständen, die Objekte aus dem 80- bis 90prozentigen Alkohol zunächst durch Terpineol aufzuhellen und in ihm zu untersuchen, bevor man dieses durch Xylol entfernt und den definitiven Einschluß in Balsam vornimmt. Natürlich kann man die Objekte auch für immer im Terpineol aufheben, indem man das Deckglas mit dem APÁTHYschen Gummisirup einrahmt;

7) es reagiert nicht sauer; Färbungen mit Karmin halten sich darin vorzüglich, auch die mit Alaunhämatoxylin scheinen nicht leicht zu verbleichen, jedoch sind meine Erfahrungen auf diesem Gebiete noch nicht ausgedehnt genug. Blutpräparate, nach GIEMSA gefärbt, leiden im Terpineol auf einige Tage sicher nicht. Dagegen haftet dem Terpineol ein Nachteil an, der es ihm nicht gestattet, das Nelkenöl ganz aus seiner bisherigen Stellung zu verdrängen: es löst so gut wie gar kein Kollodium auf, ist also dann nicht brauchbar, wenn es sich um die Orientierung kleiner Objekte zum Schneiden nach der Methode von PATTEN, HOFFMANN u. a. handelt. Ob es als Intermedium für Paraffin das Zedernöl, das ja viele benutzen, ersetzen kann, habe ich nicht geprüft. In der Wärme löst es Paraffin reichlich auf.

Neapel, Zool. Station, Ende November 1909.

[Eingegangen am 13. Dezember 1909.]

Gelbgrünes einfarbiges Licht durch Vorschalten von Lichtfiltern vor der Quecksilberlampe für mikroskopische Zwecke.

Von

Prof. Fr. C. C. Hansen
in Kopenhagen.

Die mikroskopische Beobachtung mit einfarbigem oder annähernd einfarbigem Lichte bietet bekanntlich bei gewissen Präparaten erhebliche Vorzüge; die Bilder werden besonders bei den Achromaten schärfer und vertragen stärkere Okularvergrößerungen als bei der Verwendung des gewöhnlichen mehrfarbigen Lichtes. Ein sehr zweckmäßiger Apparat ist von Dr. A. Köhler (Jena) in Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie Bd. XVI, 1899, H. 1, „Beleuchtungsapparat für gleichmäßige Beleuchtung mikroskopischer Objekte mit beliebigem einfarbigem Lichte", p. 1—28, beschrieben worden. In England z. B. verwendet man seit Jahren regelmäßig Lichtfilter bei subjektiver mikroskopischer Beobachtung, bei gewissen Diatomeenuntersuchungen u. a. Selbst habe ich häufig, wo es mir um starke Okularvergrößerungen zu tun war, mein in Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie Bd. XXIII, 1906, p. 410—414, angegebenes gelbgrünes, trockenes Lichtfilter (Lichtgrün-Naphtholgelb), welches sehr helles und dennoch ziemlich engbegrenztes Licht gibt, verwendet, indem ich bei Auer- oder Nernst-Licht das Filter einfach zwischen der mit Glyzerin gefüllten Glaskugel und dem Mikroskope aufstellte. Man erhält dadurch ein Licht, welches für subjektive Beobachtung dem Auge sehr angenehm ist, und besonders an schwarz gefärbten Präparaten (mit meinem an obiger Stelle angegebenen Eisenoxyhämateïn z. B. gefärbt) bedeutend schärfere Bilder bei starker Vergrößerung liefert; besonders wenn man starke Achromate verwendet und mit weitem Lichtkegel beleuchtet, ist der Unterschied sehr augenfällig.

Gelegentlich eines Besuches in Jena konnte ich in dem Laboratorium des Zeiss-Werkes zusammen mit dem Leiter der Abteilung für Mikroskopie, Herrn Dr. A. Köhler, die Wirkung des rein gelb-

grünen (monochromatischen) Lichtes, mittels Dr. KÖHLERS Apparat aus der Quecksilberlampe isoliert, auf einige von mir mitgebrachte schwarz gefärbte Präparate studieren.

Die Wirkung übertraf, wie zu erwarten war, noch die mit meinem gewöhnlichen Gelbgrünfilter erzielte bedeutend.

Für mikroskopische Zwecke soll das Quecksilberlicht außer in Jena auch in Paris im Institut PASTEUR verwendet worden sein, genaueres darüber ist mir nicht bekannt. Es verdient aber das Quecksilberlicht weiter verwendet zu werden, weil nämlich die Quecksilberlampe (von SCHOTT u. Genossen) gelbe, gelbgrüne und blaue Strahlen entsendet, läßt sich einfach durch Vorschalten von Lichtfiltern, z. B. den oben erwähnten Lichtgrün-Naphtholgelbfilter ein rein gelbgrünes Licht erzielen, welches für subjektive Beobachtung, passend abgestuft, sehr geeignet erscheint. Durch Vorschalten des Blaufilters erhielt man blaues Licht, das aber ziemlich dunkel dem Auge erscheint.

[Eingegangen am 21. Januar 1910.]

Zur Bleichtechnik.

Von

Prof. Dav. Carazzi

in Padua.

Von den verschiedenen zum Lösen des Pigments vorgeschlagenen Methoden sind besonders jene gebräuchlich, die auf der Anwendung des Chlors in statu nascendi oder auf seiner leichten Absonderung von einem Hyperchlorid beruhen. Dahin gehört das Eau de Javelle und das Eau de Labarraque, dann MAYERS Methode und das kürzlich von demselben Autor empfohlene Chlorwasser[1].

Im allgemeinen sind die Histologen beim Bestreben die Schwärzung mikroskopischer Schnitte zu entfernen der Anwendung eines so energischen Mittels, wie es das Chlor in statu nascendi ist, abgeneigt und ziehen andere Methoden vor. Zwar versichert MAYER, daß seine

[1]) Diese Zeitschr. Bd. XXIV, 1907, p. 353.

Methode mit sich entwickelndem Chlor und auch die Anwendung des Chlorwassers sehr gut für mikroskopische Schnitte geeignet sei, doch meine ich, daß nicht viele sich herbeilassen werden die Schnitte mit Chlor zu behandeln, wenngleich er rät, auf solche Weise „die nicht entparaffinierten Schnitte zu bleichen“.

Die ersten Methoden zum Bleichen der von der Osmiumsäure geschwärzten Gewebe beruhten auf der Anwendung der gewöhnlichen Intermedien, besonders des Bergamotteöls oder des Sauerstoffs, erhalten aus dem leicht angesäuerten Wasserstoffperoxyd. Alfieri schlug das seit vielen Jahren im Handel zum Bleichen der Badeschwämme gebrauchte Mittel vor, das Kaliumhypermanganat mit nachfolgender Oxalsäure. Ebenso ist die Methode Altmanns bekannt das durch Gold reduzierte Osmium fortzuschaffen, was durch Einwirkung des Lichts bei Anwesenheit einer saueren Flüssigkeit geschieht.

Vor 15 Jahren habe ich vorgeschlagen[1] das Wasserstoffperoxyd durch ein alkalisches Peroxyd bei Anwesenheit einer saueren Flüssigkeit zu ersetzen, um die Entwicklung des Sauerstoffs zu erhalten. Das von mir empfohlene Salz (Natriumsuperoxyd) ist nicht nur selten, da wenig angewandt, sondern auch im Gebrauch unbequem. Deshalb empfahl Mayer, meine Methode sich aneignend, das bequemere Magnesiumhyperoxyd, das heute als Antiseptikum unter dem Namen Magnesiumperhydrol vielfach verwendet wird.

* * *

Wenn man die verschiedenen Methoden zum Bleichen der mit Osmiumlösungen fixierten und dadurch geschwärzten Schnitte vergleichen will, muß man zugeben, daß alle ihre Nachteile haben. Der hauptsächlichste darunter ist die große Schwierigkeit, die sich der Färbung nach dem Bleichen entgegenstellt.

Wenn die durch Goldchlorid erzielte Färbung hinreichen würde, wäre Altmanns Methode wegen ihrer Einfachheit, ihres sicheren Gelingens und weil den Schnitten absolut unschädlich, sicher allen anderen vorzuziehen. Man nimmt den die geschwärzten Schnitte fassenden Objektträger, taucht ihn in ein Gefäß mit ein- bis 2prozentiger Goldchloridlösung und hält ihn bis zum anderen Morgen im

[1]) Zool. Anzeiger Jahrg. XVII, 1894, p. 135.

Dunkeln. Dann läßt man gut abtropfen und trocknet den Objektträger auf der Rückseite, worauf man ihn in ein Gefäß mit einprozentiger Ameisensäure taucht, das man dem zerstreuten Licht oder auch (falls kein zu heißer Tag ist und man das Gefäß unbedeckt läßt) dem direkten Sonnenlicht aussetzt. Nach einigen Stunden (4 bis 6) hat das reduzierte Gold die Schnitte in Purpur gefärbt und man bemerkt keine Spur der schwarzen Farbe mehr.

Wenn man dann, wie Apáthy mir geraten hat, das reduzierte Gold entfernen will, um ungefärbte Schnitte zu haben, braucht man sie nur in schwachen Alkohol zu tauchen, dem 3 bis 5 Prozent Jodtinktur zugesetzt ist. Aber dann widerstehen sie jeder Art Färbung, wenngleich ein wiederholtes Behandeln mit angesäuertem Alkohol eine immerhin nie leicht zu erreichende Färbung ermöglicht.

Die Methode mit Kaliumhypermanganat kann wohl Dienste leisten, doch muß man den Schaden in Rechnung stellen, den die Oxalsäure den Schnitten zufügen kann, falls man ihre Wirkung nicht aufmerksam überwacht.

Der durch Wasserstoffperoxyd erhaltene Sauerstoff ist nur in ziemlich konzentrierten Lösungen wirksam; aber die seit vielen Jahren den Chemikern bekannte 30prozentige ist nicht anzuraten, weil gefährlich. Schwache Lösungen wirken ungenügend und haben noch die üble Eigenschaft, sich sehr leicht zu zersetzen. Sie müssen gut verschlossen im Dunkeln aufbewahrt werden, sonst findet man statt Wasserstoffperoxyd nur einfaches Wasser! Man darf auch nicht vergessen, daß im Handel (ich weiß nicht ob in betrügerischer Absicht oder aus Unkenntnis) oft ein mit Mineralsäuren versetztes Wasser als Wasserstoffperoxyd verkauft wird.

Das Magnesiumhyperoxyd wirkt nicht sehr energisch, ist aber ein ziemlich gutes Mittel; immerhin ist die fortwährend nötige Ansäuerung der Flüssigkeit unbequem, ohne welche sich kein Sauerstoff entwickelt. Außerdem ist die nachfolgende Färbung der Schnitte erschwert und das Reagens muß gut verschlossen und trocken gehalten werden, sonst wird es unverwendbar.

* * *

Ich habe versucht mich eines Salzes zu bedienen, das die Vorteile des Magnesiumhyperoxyds ohne seine Nachteile besäße und habe es in einem anderen Natronsalz gefunden, im Natriumperborat,

das im Handel unter dem Namen Oxylithe[1] vorkommt und auch „poudre d'eau oxygénée à l'état naissant" (!) genannt wird.

Es ist ein weißes Pulver, das sich lange Zeit ohne jede Vorsichtsmaßregel unverändert erhält, selbst in Pappschachteln (ich bewahre es so seit länger als einem Jahre und es ist immer aktiv) und durch Feuchtigkeit nicht leidet. Das Natriumperborat enthält 10 Prozent Sauerstoff, d. h. es entwickelt 80 Liter auf je 100 g. Bei gewöhnlicher Temperatur lösen 100 cc Wasser 2·5 g; erhitzt man aber das Wasser auf 30—35° C, so löst sich das doppelte Quantum. Fügt man dann ein wenig Zitronen- oder Weinsäure hinzu, so kann man die Sauerstoffmenge auf das Zehnfache des ursprünglichen Volumens erhöhen. Die Lösung bleibt neutral, höchstens leicht säuerlich, weil Borsäure frei wird.

Der Objektträger mit den zu bleichenden Schnitten kann außer in Wasser auch in schwachen Alkohol von 50 bis 70 Prozent gestellt werden; die Entwicklung von Sauerstoff aus dem Perborat findet dann gleichfalls statt, nur ist in diesem Falle der Zusatz von Zitronen- oder Weinsäure unerläßlich.

Die geschwärzten Schnitte bleichen ziemlich schnell, wenn die auf die Fixierung folgenden Waschungen sorgfältig ausgeführt werden. Die Färbung der gebleichten Schnitte vollzieht sich ohne Schwierigkeit. Das Natriumperborat ist den Geweben ganz unschädlich und scheint mir dem Magnesiumperhydrol überlegen.

[1]) Dieses in Frankreich viel als Antiseptikum gebrauchte Produkt wird von der „Société L'Oxylithe" (113 rue Cardinet, Paris 17e) verkauft.

Padua, Zool. Institut, 3. Dezember 1909.

[Eingegangen am 6. Dezember 1909.]

Über die Abkühlung des Paraffins.

Von

Prof. Dav. Carazzi
in Padua.

In den Lehrbüchern über mikroskopische Technik wird empfohlen den Paraffinblock in kaltem Wasser, auch mit Zusatz von Eis[1], schnell abzukühlen. Mir ist nur ein Werk bekannt, das eine Ausnahme macht, und zwar Henneguys „Traité des méthodes techniques“[2], wo der Verf. erklärt „souvent des masses excellentes après un refroidissement lent“ erhalten zu haben. Er fügt hinzu, daß „M. Lindsay Johnson, qui a fait des nombreuses expériences comparées sur ce sujet, a eu l'obligeance de m'écrire qu'apparemment la manière du refroidissement n'est qu'une cause minime de la formation de cristaux. Celle-ci serait provoquée, selon lui, par la présence d'une petite quantité de l'essence de pénétration demeuré dans la paraffine“.

Vor kurzem hat Kappers[3] die Notwendigkeit einer raschen Abkühlung des Paraffinblockes befürwortet und hat hervorgehoben, daß, „während in dem langsam erstarrenden Paraffin, wo einige Teile noch ganz flüssig sind, indem andere erstarren, eine ziemlich reine und grobe Auskristallisierung stattfinden kann, ist das in der stark gekühlten, im ganzen schon dicker gewordenen Schmelzung eine Unmöglichkeit“.

Diese Angaben stimmen nicht ganz mit jenen Neumayers[4] überein, nach diesem „ist eine absolut durchgreifende und schnelle Abkühlung des Paraffins unbedingt notwendig, weil bei langsamer Abkühlung sehr leicht Luftblasen in demselben entstehen und das Paraffin durch Kristallisation ein sehr lockeres Gefüge bekommt, ein

[1] „Zusatz von Eis zum Wasser ist zu empfehlen“ (Enzykl. d. mikr. Technik Bd. II, 1903, p. 1077).

[2] p. 206, Paris 1896.

[3] Diese Zeitschr. Bd. XXIV, 1907, p. 255.

[4] Enzyklop. d. mikr. Technik Bd. II, 1903, p. 1077.

Umstand, der das Schneiden solcher Paraffinblöcke sehr schwierig oder ganz unmöglich macht".

* * *

In Anbetracht des Umstandes, daß auch in dieser kleinen und bescheidenen, die mikroskopische Technik berührenden Frage die Meinungen geteilt sind, habe ich eine Reihe von Versuchen angestellt, die folgendes Resultat ergeben haben:

1) Es ist unnötig, ja es kann sogar schädlich sein, den Paraffinblock mit kaltem Wasser abzukühlen.

2) Die Versuche Henneguys stehen mit den meinen nicht in Einklang; da ich in dem zur Verwendung gelangten Paraffin jedes Intermedium völlig ausgeschlossen habe und es von bester Qualität war (bezogen von Grübler & Co.), so können die ungleichen Resultate nicht durch in der Masse zurückgebliebene Essenz bedingt worden sein.

3) Die langsame Abkühlung des Paraffinblocks an der Luft verursacht nicht die Bildung von kleinen Kristallen, sondern von kleinen Hohlräumen zwischen den Sphäriten oder Geoden, welche die erstarrte Paraffinmasse bilden. Der so entstehende Block besteht im Innern aus einer weißlichen Masse, die sich schlecht in feine Schnitte zerlegen läßt und sich wie die Paraffinblöcke verhält, in denen eine beträchtliche Menge des Intermediums zurückgeblieben ist.

4) Die langsame Abkühlung, vorausgesetzt, daß sie unter Wasser vorgenommen wird, ergibt einen Block, der sich nicht von dem durch rasche Abkühlung im kalten Wasser erhaltenen unterscheidet. Das Resultat ist das gleiche, selbst bei einer die Zimmertemperatur übersteigenden Wassertemperatur. Auf solche Art habe ich homogene und fehlerlose Paraffinblöcke erhalten, auch wenn das Wasser eine Temperatur von 30, ja selbst 35° C besaß.

* * *

Wenn wir die nach den drei verschiedenen Methoden erhaltenen Paraffinblöcke untersuchen, und zwar die:

a) mit kaltem Wasser,
b) mit Wasser von Zimmertemperatur (30—35° C),
c) bei langsamer Abkühlung an der Luft hergestellten (am langsamsten erreichte ich das, indem ich sie nach Abdrehen

der Flamme im auf 62—65° C erhitzten Ofen beließ, bis alles sich auf die Raumtemperatur abgekühlt hatte, was nach einigen Stunden der Fall war),

so finden wir, daß sich ihr Aussehen nur wenig von dem sogenannten kristallinischen unterscheidet. Und zwar erfolgt in allen drei Fällen die Erstarrung des Paraffins unter Bildung von kleinen Sphäriten oder Geoden, d. h. von Körpern, die aus einer Reihe konzentrischer, um einen Punkt gelagerter Schichten bestehen.

Die einzelnen Geoden sind aneinander gedrängt und in den Zwischenräumen sind andere Schichten feiner Blättchen abgelagert.

Dieses Aussehen ist sehr von dem verschieden, welches das in einem Intermedium (Xylol, Benzol usw.) gelöste Paraffin besitzt. In diesem Falle entstehen nadelförmige Kristalle (im Gegensatz zu KAPPERS Angabe).

Wenn die Abkühlung nach a) und b) erfolgt, zeigt der Block keine Hohlräume zwischen den Sphäriten und diese sind kleinen Umfangs, im Falle c) hingegen sind sie größer, die Interstitialschichten besitzen geringere Resistenz und oft können Hohlräume wahrgenommen werden.

* * *

Daraus folgt, daß man den Paraffinblock nicht an der Luft erstarren lassen soll, sondern im Wasser. Es ist nicht nötig, daß es kalt sei, was sogar häufig schädlich wirkt, weil dadurch eine konkave Oberfläche, sowohl auf als unter dem Block verursacht wird. Es genügt also die Zimmertemperatur des Wassers, auch wenn das Thermometer über 30° C steht. Der Block muß im Wasser bleiben, bis die Erstarrung des Paraffins vollzogen ist.

Padua, Zoologisches Institut, 27. November 1909.

[Eingegangen am 29. November 1909.]

Über das Aufkleben der Celloïdinschnitte.

Von

Prof. Dav. Carazzi
in Padua.

Die fortwährend neu vorgeschlagenen Methoden zum Aufkleben von Serienschnitten der in Celloïdin eingebetteten Stücke lassen vermuten, daß wir nicht eine einzige zuverlässige haben, gerade wie die vielen zur Behandlung einer Krankheit gebräuchlichen Arzneien das Fehlen eines spezifischen Heilmittels für selbe beweisen.

Wenn es sich um eine größere Schnittdicke, d. h. über 20 μ handelt, ergibt sich keine Schwierigkeit und die Methoden Weigerts, Summers oder Obregias, ohne von der neueren von Olt[1] zu sprechen, sind alle leicht und sicher. Sobald man aber dünnere Schnitte als 15 μ anfertigen will und besonders, wenn man unter 10 μ heruntergeht, ändert sich die Sache. Zwar erlaubt Apáthys Methode mit Bergamotteöl lückenlose dünne Serienschnitte auch von 5 μ zu erhalten, aber sie erfordert eine solche Aufmerksamkeit und solche Genauigkeit der Ausführung, daß ihre geringe Verbreitung wegen des großen Zeitaufwandes erklärlich wird.

Auch der Versuch die Schwierigkeit dadurch zu umgehen den Celloïdinblock wie das Paraffin zum Schneiden mit dem trockenen Messer tauglich herzustellen, muß keine hoch zu schätzenden Resultate geliefert haben.

Es ist daher begreiflich wie die vor nicht langer Zeit von Rubaschkin[2] vorgeschlagene Methode, welche unzweifelhaft einen bemerkenswerten Fortschritt gegenüber den gewöhnlichen in den Lehrbüchern und in der Encyklopädie der Mikrotechnik aufgezählten Methoden darstellt, bald eine große Verbreitung finden mußte.

Immerhin mag erwähnt werden (und das ist teilweise der Zweck dieser Mitteilung), daß eine der Rubaschkinschen sehr ähnliche Me-

---

[1]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXIII, 1906, p. 323.

[2]) Rubaschkin, W., Eine neue Methode zur Herstellung von Celloïdinserien (Anat. Anzeiger Bd. XXXI, 1907, p. 30).

thode in Italien teilweise veröffentlicht und andernteils mit in vielen unserer Laboratorien bekannten Modifikationen zu solch verhältnismäßiger Vollkommenheit ausgebildet wurde, daß sie zweifellos jener des russischen Doktors gleichwertig ist. Der Bequemlichkeit halber werde ich diese Methode bezeichnen als:

Italienische Methode. Vor mehr als 20 Jahren hat BRAZZOLA[1] eine Methode zum Aufkleben von Celloïdinserien veröffentlicht, wobei er sich des Eiweiß-Glyzerins von MAYER[2] bediente. Während er jedoch (wie später RUBASCHKIN) die Schnitte direkt vom Messer auf den mit Eiweiß bestrichenen Objektträger brachte, dehnte STADERINI in einer 5 Jahre später erschienenen Mitteilung[3] das Übertragen mit Hilfe eines dünnen Papierbogens auf ein ganzes Rechteck mehrerer Schnittreihen aus, welches Verfahren noch WEIGERT (obzwar nur für eine Reihe) in seiner bekannten Methode anwandte. Im folgenden Jahre veröffentlichte RUFFINI[4] seine die Angaben BRAZZOLAS und STADERINIS verwertende Methode mit einigen unwichtigen Zusätzen.

Aber hier angelangt, war die Methode noch weit von jenem sicheren Gelingen entfernt, das sie heute aufweist und ihr mit jener RUBASCHKINS zu rivalisieren gestattet. Wem man die folgenden Modifikationen mit Sicherheit zuschreiben könnte, vermag ich nicht zu sagen; wie ich sie nachstehend kurz darlege, entspricht dem, was ich im hiesigen Anatomischen Institute vom Professor der topographischen Anatomie Dr. G. STERZI erfahren habe.

Das Messer wird mit 70prozentigem Alkohol benetzt und die Schnitte werden auf ein rechteckiges, dünnes ungeleimtes Papier (Watercloset-Papier) gebracht und dort, gut geordnet und geglättet, feucht erhalten. Sobald das Papier voll belegt ist, setzt man mit dem Schneiden aus und trocknet die Schnitte mit schwedischem Fließpapier leicht ab, bedeckt sie mit dem Glas, das mit Eiweiß-Glyzerin dünn bestrichen wurde und preßt es ein wenig an; dann faßt man das Papier mit den Schnitten und das Glas vorsichtig zusammen an und dreht es um, so daß dieses auf dem Tisch zu ruhen kommt.

[1]) Memorie Accad. Sc. Ist. Bologna; Ser. IV, t. VIII, 1888, p. 681.

[2]) HELBING schreibt irrtümlich dem RUFFINI die Anwendung des Eiweiß-Glyzerins bei Celloïdinserien zu (Encykl. mikr. Technik Bd. II, 1903, p. 1216).

[3]) Monit. zoologico italiano, Anno IV, 1893, p. 77.

[4]) Ibidem. Anno V, 1894, p. 125.

Dann drückt man nochmals mit den Fingern etwas darauf, damit die Schnitte gut am Glase haften und taucht sie in 95- bis 96prozentigen Alkohol, um das Austrocknen zu verhindern und das Albumin zum Gerinnen zu bringen. Auf diese Weise ist das Haften der Schnitte am Glase gesichert.

Den einzigen mißlichen Moment bei diesem Verfahren bildet das Abheben des Papiers, denn wenn man vorher die Schnitte zu sehr abgetrocknet hat, werden sie wohl haften, aber ausgetrocknet und daher unbrauchbar sein (was sich durch die weiße Färbung zeigt, die sie annehmen). Wenn das Papier übermäßig feucht war, verdünnt der Alkohol das Eiweiß zu sehr und der eine oder andere Schnitt haftet nicht oder kann sich bei der folgenden Behandlung ablösen. Man muß also Sorge tragen das Papier mit den Schnitten feucht zu erhalten, aber nicht übermäßig, und wenn man es abheben will, so tue man es langsam und biege es nach hinten, wobei man gleichzeitig mit dem Finger auf die Falte drückt. So fährt man, das Papier nach rückwärts abziehend, fort, bis alle Schnitte bloßgelegt sind und festhaften.

Nach dem Alkoholbad von 95 bis 96 Prozent überträgt man sie in ein Gefäß mit reinem Kreosot und beläßt sie dort, bis sie ganz durchsichtig werden (5 bis 10 Minuten). Dann bettet man sie, nach vorausgegangenem Bade in Xylol, in Harz falls die Schnitte schon gefärbt sind, falls sie aber erst gefärbt werden sollen, muß das Kreosot mit absolutem Alkohol entfernt werden (eventuell Alkohol und Äther, wenn man das Celloïdin lösen will). Weiter überträgt man in 90prozentigen, dann 70prozentigen Alkohol und schließlich in Wasser, worauf die gewöhnliche Behandlung für das Färben, Entwässern und Einschließen folgt.

Wenn der Celloïdinblock schon gefärbt ist und die Schnitte also keiner anderen Behandlung bedürfen als des Aufhellens und des Einschließens in Harz, kann man das Eiweiß-Glyzerin durch eine reine und filtrierte Gummiarabikumlösung ersetzen. Die auf dem Glase gut ausgebreitete dünne Schicht wird durch Übertragen in 96prozentigen Alkohol koaguliert und die Schnitte bleiben gut haften. Dann werden sie aufgehellt und das Präparat geschlossen. Es versteht sich, daß Gummi nicht verwendet werden kann, wenn die Schnitte noch gefärbt werden sollen, denn die Übertragung in wässerige Lösungen würde den Gummi auflösen und das Abheben der Schnitte verursachen. Die äußerst dünne Gummischicht macht das Präparat nicht undurchsichtig.

Einer anderen Methode bedient sich FAVARO[1] zum Färben der schon reihenweise auf dem Papier geordneten Schnitte vor dem Aufkleben auf Glas. Sie werden wie gebräuchlich in einem auf dem Papier bezeichneten Rechteck angeordnet und mit Alkohol feucht erhalten. Sobald das Rechteck belegt ist, werden die Schnitte mit Fließpapier abgetrocknet und mit einem anderen solchen Blatte bedeckt, auf welches Hämatoxylin gegossen wird. Darauf wird dieses Blatt durch ein anderes ersetzt und mit in Alkohol gelöstem Eosin begossen. Nach erfolgter Färbung wird die überschüssige Farbe mit Alkohol entfernt (natürlich werden die Schnitte durch andere Blätter Fließpapier geschützt), dann werden die Schnitte abgetrocknet und auf den vorher mit einer dünnen Schicht konzentrierter Gummilösung bestrichenen Objektträger gestürzt. Man preßt die Schnitte an und fährt in der schon bei der Eiweißmethode angegebenen Weise fort. Außer starkem Alkohol benutzt FAVARO absoluten (was unnötig ist), dann taucht er in Kreosot und schließt in Balsam ein.

Methode RUBASCHKIN[2]. In seiner sachgemäßen und genauen Darstellung erkennen wir eine Methode, welche (wohl ohne Wissen des Autors) mehrfache Berührungspunkte mit der italienischen hat.

Er schneidet mit einem mit 50- bis 60prozentigem Alkohol benetzten Messer, ordnet die Schnitte auf der Klinge und bringt sie, wenn genug davon vorhanden, auf den mit Eiweiß-Glyzerin im Verhältnis von 2 : 1 sehr dünn bestrichenen Objektträger. Wie man sieht unterscheidet sich die Methode bisher nicht von der BRAZZOLAS oder RUFFINIS, doch wird die von STADERINI vorgeschlagene Übertragung auf ein Papierblatt nicht angewendet.

RUBASCHKIN empfiehlt gleich BRAZZOLA, „die Schnitte mit möglichst wenig Alkohol zu übertragen“[3]. Der russische Autor hebt dann die große Wichtigkeit des genauen Glättens der Schnitte hervor, die mit feuchtem Pinsel angepreßt werden, um die Falten sicher auszugleichen, besonders jene, die sich an den Rändern bilden. „Das Glätten der Schnitte ist von großer Wichtigkeit, da die letzteren sonst an der Stelle der Falten am Glas nicht haften bleiben und sich hier leicht ablösen“[4].

[1]) Atti Istit. veneto Sc. Lett. Arti t. LXV, pt. 2, 1905—06, p. 5.
[2]) Anat. Anzeiger Bd. XXXI, 1907, p. 30—31.
[3]) BRAZZOLA, l. c.
[4]) RUBASCHKIN, l. c.

Jetzt wird der Objektträger mit den Schnitten in ein Gemisch gleicher Teile Nelken- und Anilinöl (Anilinum purum) gebracht, wo man sie beläßt, bis sie hell und völlig durchsichtig geworden sind. Wenn nur wenig Alkohol auf den Schnitten geblieben ist, genügen 3 bis 5 Minuten, doch bringt längeres Verweilen keinen Schaden. Darauf entfernt man das Öl durch in drei Gefäßen aufeinander folgendes Waschen in 90prozentigen Alkohol, dann in 70prozentigen, wo die Schnitte bleiben. Schließlich werden die zur Färbung usw. nötigen Behandlungen vorgenommen.

Von Wera Dantschakoff und von Maximow wurden Modifikationen der Methode Rubaschkin vorgeschlagen. Die erste[1] empfiehlt die Schnitte mit schwedischem Fließpapier an den Objektträger anzupressen und sie aus dem Öl nicht in 70prozentigen Alkohol, sondern in starken von 96^0 oder in absoluten zu übertragen. Wie schon früher erwähnt, sind diese Modifikationen schon in der italienischen Methode berücksichtigt gewesen.

Nach der Verfasserin hängt die größere oder geringere Schwierigkeit beim Aufkleben der Schnitte von der längeren oder kürzeren Aufbewahrung des Celloïdinblockes im Alkohol ab, und wenn die Einbettung kürzlich vorgenommen wurde, haften sie gut, und nur schwer, wenn schon längere Zeit darüber verstrichen ist. Auf Grund meiner Erfahrung halte ich diese Angaben für nicht zutreffend, gleich der anderen, daß das Schrumpfen der Schnitte von dem relativen Quantum Anilinöl abhängen soll, das sie im Verhältnis von 1 : 2 dem Nelkenöl zusetzt. Hingegen scheint es mir wahrscheinlich (obwohl mir persönliche Erfahrung fehlt), daß Schnitte von sehr jungen Hühnerkeimscheiben, deren Dottermassen nur schwer am Glase haften bleiben, nicht leicht aufzukleben sind.

Vor kurzem hat Maximow[2] die eingehende Beschreibung Rubaschkins wiederholt, wobei er Sorge trug (was alle diesen Gegenstand behandelnden Autoren vergessen haben), die Schnittdicke genau zu bestimmen. Er versichert, daß man mühelos Schnitte von 5 μ erhalten kann, wenn die Wasserentziehung sorgfältig vorgenommen wird und die Härtung des Blocks langsam erfolgt. Die von Maximow gewöhnlich angewandte Schnittdicke war für Säugetierembryonen 7 μ und für kleine Objekte (wenn auch selten) nur 3 μ.

---

1) Diese Zeitschr. Bd. XXV, 1908, p. 32.

2) Diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 184.

Leider vernachlässigt er in seiner Ausführung zwei wichtige Punkte der Methode Rubaschkins. Er vergißt zu empfehlen die Schnitte auf den Objektträger zu bringen, nachdem sie schon auf dem Messer geordnet sind und begnügt sich zu bemerken: „zu viel Alkohol kann die Schnitte wegschwemmen", während sein Kollege mit vollem Recht, gleich Brazzola, auf dem wichtigen Umstand besteht, den Spatel beim jedesmaligen Übertragen eines Schnittes vom Messer auf den Objektträger mit Fließpapier abzutrocknen.

Wenn man nach jedem Schnitte die Sektionen einzeln vom Messer aufs Glas überträgt, ist man zu wiederholtem Befeuchten der Schnitte gezwungen, was eine übermäßige Verdünnung des Eiweiß-Glyzerins verursacht. Wenn man dagegen die Schnitte auf dem Messer beläßt, bis man die nötige Anzahl beisammen hat, um das Rechteck des Objektträgers ausfüllen zu können, wird man keine weitere Zugabe von Alkohol nötig haben, wie es gleicherweise der Fall ist, wenn man dem Rate Rubaschkins und Brazzolas folgt, jedesmal den Spatel, welcher den Schnitt trägt, unten abzuwischen, wodurch der auf den Objektträger gelangende Alkohol aufs geringste Maß beschränkt wird.

Man darf diese beiden Vorsichtsmaßregeln nicht für nebensächlich halten, denn sie sind im Gegenteil von größter Wichtigkeit. Es ist nötig, sich vor Augen zu halten, daß die Flüssigkeit (Alkohol + Wasser) nicht wie bei den Einbettungen in Paraffin durch Hitze zum Verdunsten gebracht wird. Auf die letztere Weise bleibt das ganze Schichtchen Eiweiß auf dem Objektträger, aber bei den Celloïdinschnitten wird die Flüssigkeit mit Fließpapier entfernt, mit dem man daher auch einen Teil des gelösten Eiweiß-Glyzerins fortnimmt. Ohne Zweifel würde jemand, der den Angaben Maximows folgt und diese beiden Vorsichtsmaßregeln nicht einhält, bei den folgenden Manipulationen durch das Ablösen der Schnitte vom Objektträger sehr enttäuscht werden.

Maximow ersetzt die Mischung beider Öle durch Nelkenöl allein (rein englisch Nelkenöl) und mir scheint mit Vorteil. Dann überträgt er die Schnitte, ohne sie neuerdings mit Fließpapier an das Glas zu pressen, wie es Dantschakoff empfiehlt, nacheinander in drei Gefäße mit absolutem Alkohol, dann in Alkohol und Äther, um das Celloïdin zu lösen. Es folgen darauf die gewöhnlichen Übertragungen in schwachen Alkohol, in Farbelösungen usw. Der Verf. erwähnt schließlich, daß die mit Osmium behandelten Schnitte sich schwerer aufkleben lassen.

Die vorbeschriebenen zwei Methoden weisen einen bemerkenswerten Fortschritt gegen die früheren auf, es ist also nicht nötig über die Unzulänglichkeit jener von Gage[1], Argutinsky[2] und Lee[3] zu sprechen.

Zum Vergleiche habe ich einige Proben nach der italienischen und nach der russischen Methode gemacht und gefunden, daß beide leicht ausführbar und ganz sicher sind, wenn man mit schon gefärbten Schnitten arbeitet und man daher vom Öl nur zum Intermedium und dann zum Harz überzugehen braucht. Die Methode Favaros, die gute Dienste leisten kann, obwohl sie nur in wenigen Fällen anwendbar sein wird, habe ich nicht probiert.

Mit großem Vorteil habe ich den Spatel durch den Ehrenbergschen Federpinsel[4] ersetzt. Diesen hält man in der linken Hand, während die rechte den gewöhnlichen Pinsel führt, mit dem man den Schnitt auf den unter den Rand der Klinge gehaltenen Federpinsel schiebt. Dann berührt man mit diesem das Fließpapier, um den überschüssigen Alkohol zu entfernen und zieht den Schnitt mit einer Nadel auf seinen Platz am Objektträger. So wird der Schnitt kaum mit Alkohol befeuchtet.

Von ziemlicher Wichtigkeit ist die Wahl des Alkohols, der den Block und das Messer feucht erhalten muß. Mir scheint es nicht angezeigt zu schwachen zu verwenden, wie Rubaschkin anrät, weil er leichter das Eiweiß verdünnen würde und ebenso wäre der starke Weingeist schädlich, der durch rascheres Verdunsten das Austrocknen der Schnitte verschulden könnte. Ich benutze deshalb 75prozentigen Alkohol.

Viel wichtiger noch ist die Entscheidung, welche der beiden Methoden den Vorzug bei jener Operation verdient, durch welche sie sich hauptsächlich voneinander unterscheiden. Soll man die zwischenliegende Übertragung von der Klinge auf Papier vornehmen (italienische Methode) oder die Schnitte direkt auf den Objektträger bringen (russische Methode)? Wenn man nur wenige Schnitte auf den Objektträger zu bringen hat, z. B. 20 bis 30, kann man direkt von der Klinge aufs Glas übertragen, falls es sich aber um eine große Anzahl handelt, finde ich die italienische Methode vorteilhafter. In der Tat kann man mit dieser die Schnitte hinreichend mit Alkohol

[1]) Proc. Amer. Micr. Soc. Bd. XIV, 1892, p. 82.

[2]) Arch. mikr. Anat. Bd. LV, 1900, p. 47.

[3]) The Microt. Vade-Mecum. 6 ed. 1905, p. 144.

[4]) Siehe Apáthy, Die Mikrotechnik, Abt. 1, 1896, p. 225.

feucht erhalten, so lange sie auf dem Papier sind. Sie werden dann alle zusammen abgetrocknet und rasch ans Glas geheftet. Erfolgt hingegen die Übertragung sofort auf dieses, so müßte man fortfahren mit Alkohol zu befeuchten, um das Austrocknen zu vermeiden und da man nur geringe Mengen zusetzen darf, wäre man genötigt das mit großem Zeitverlust oft zu wiederholen und noch der Gefahr ausgesetzt, daß die Schnitte später nur schlecht haften.

Es scheint mir angezeigt die Methode Rubaschkins in einem anderen Punkte zu modifizieren. Er überträgt das Glas direkt ins Ölbad, während die Schnitte noch mit schwachem Alkohol benetzt sind. Vorausgesetzt, daß sie vollkommen gebleicht sind, bleiben sie wirklich haften, auch wenn sie später mehrmals in Alkohol, in Wasser, in die Farbelösung usw. übertragen werden. Um aber eine richtige Aufhellung zu erzielen, müssen die Schnitte längere Zeit im Öl bleiben und es ist sogar vorzuziehen, es einmal zu erneuern. Deshalb finde ich es bequem der italienischen Methode zu folgen und die Schnitte vor dem Übertragen ins Öl mit 96- bis 97prozentigem Alkohol zu behandeln. Man hat dadurch den Vorteil das Eiweiß gerinnen zu machen, um die Aufhellung rascher zu erreichen. Bei der folgenden Behandlung wird man ebensfalls der italienischen Methode den Vorzug geben und das Öl, wie es auch die Dantschakoff und Maximow empfehlen, mit starkem oder absolutem Alkohol entfernen.

Berücksichtigt man diese Vorsichtsmaßregeln, so sind beide Methoden, die italienische und die russische, bequem und sicher, falls das Stück schon in toto gefärbt ist. Wenn aber die Schnitte noch alle folgenden Manipulationen beim Auswaschen, Färben und Wasserentziehen durchmachen müssen, ist es nötig, um das Ablösen zu verhüten, alle Vorschriften Rubaschkins, die Maximow zum Teil wiederholt, genau zu befolgen. Ich glaube ferner, daß die Arbeit durch die kleinen von mir vorgeschlagenen Modifikationen erleichtert wird.

Bezüglich der Schnittdicke hängt alles von der größeren oder geringeren Genauigkeit beim Härten des Celloïdinblocks und von der Schärfe der Messerklinge ab. Man darf nicht vergessen, daß zum Herstellen einer lückenlosen Schnittserie unter 10 μ Dicke das Messer sehr gut geschliffen und das Celloïdin sehr gut gehärtet sein muß.

Wenn die Schnitte dick sind, d. h. mehr als 15 μ, ist es unschwer, sie gut ausgebreitet zu erhalten; geht man aber auf 12, 10

oder 7 μ herab, so bemerkt man nicht selten im Innern, gerade wo das Präparat ist, kleine, sehr schwer zu entfernende Falten. Ich möchte sogar behaupten, daß solche Falten nicht zum Verschwinden gebracht werden können, und daß der mit dem Fließpapier ausgeübte Druck das Anhaften wohl unterstützt, aber diese Falten noch beständiger macht. Sie haben, wie ich annehme, ihren Grund im fehlerhaften Härten des Blockes. Dieser ist außen gut gehärtet, aber im Innern etwas weniger, wodurch sich beim Schneiden solche Falten bilden. Das Härten muß also sehr genau ausgeführt werden, indem man sich des völligen Eindringens des Celloïdins versichert. Das geschieht durch langes Einwirken desselben, nachdem man dem Präparat sorgfältig das Wasser entzogen hat.

Es ist kaum nötig noch auf einen anderen Umstand hinzuweisen. Wenn man die Schnitte aufs Papier überträgt und dort mit ihrer Oberseite anordnet, werden sie beim Übertragen auf das Deckglas umgedreht, aber wenn dieses wieder auf den Objektträger gestürzt wird, sieht man sie neuerdings von oben. Dagegen bleiben sie umgekehrt, falls sie vom Papier auf den Objektträger oder von der Klinge aufs Deckglas gebracht werden. Es ist zu leicht diesem Übelstande abzuhelfen (wenn man ihn überhaupt dafür hält), um darüber noch Worte zu verlieren.

Padua, Zool. Institut, am 31. Dez. 1909.

[Eingegangen am 3. Januar 1910.]

Sur l'injection tardive du système circulatoire.

Par

B. Možejko,

Musée des Sciences naturelles à Simféropol (Crimée).

Dans une remarque récemment publiée dans ce journal j'ai exposé quelques méthodes d'injection des mollusques acéphales.

Aujourd'hui je me permets d'exposer quelques remarques complémentaires relatives aux injections.

Ce que peut paraître un peu paradoxal de prime abord, c'est que dans la plupart des animaux l'injection réussit mieux quand ils commencent à se décomposer, même quand cette décomposition est déjà avancée.

Il faut placer en premier lieu les invertébrés, pour l'injection desquels la règle générale consiste en ce que l'opération doit être exécutée un temps plus ou moins considérable après leur mort. On peut pratiquer cette injection immédiatement après la mort de l'animal, mais dans ce cas elle ne sera jamais aussi complète que dans les conditions susdites. Tel est le cas dans les vers, dans les mollusques gastéropodes, dans les crustacés.

Naturellement, on doit prendre en considération dans chaque cas la nature de l'animal. Par exemple, pour un Distome l'injection convient mieux 2—3 heures après sa mort, mais quand j'ai voulu opérer sur une planaire pendant mon séjour à la station zoologique de Mourman (1906), cette planaire était tellement décomposée qu'on ne pouvait même plus y piquer l'aiguille de la seringue.

Quant aux Hirudinés (Hirudo, Aulastomum), on peut faire avec succès une injection le lendemain et même le surlendemain de leur mort. Quant aux mollusques je n'ai pas eu besoin d'appliquer cette méthode aux Lamellibranches, dont j'ai décrit l'injection, dans la notice citée plus haut, car elle me réussissait parfaitement bien, ces animaux étant encore à demi vivants, mais quant aux gastéropodes, je n'ai jamais fait une injection aussi parfaite que lorsque j'ai opéré sur un animal 2—4 jours après sa mort.

Il est à remarquer que je ne parle ici que de l'injection du système circulatoire, mais je dois avouer pourtant qu'en ce dernier

cas l'injection des conduits des glandes salivaires m'a réussi parfaitement bien aussi dans ces conditions.

Quant aux Crustacées je n'applique cette méthode qu'à l'injection du système veineux, car on réussit à injecter les artères et même à faire passer la masse jusque dans les sinus veineux, sur des individus tout à fait vivants, mais quant au système veineux, on ne réussit à l'injecter complètement qu'un ou deux jours après la mort de l'animal. En ce cas aussi on doit prendre en considération la nature de l'animal, car un homard est complètement impropre à l'injection le lendemain de sa mort[1].

Si l'on tient à obtenir une injection tout à fait complète chez un invertébré, c'est à dire si l'on veut faire pénétrer la masse des artères jusque dans les sinus de manière à faire un cercle complet de circulation on doit exclusivement employer cette méthode, car ce n'est qu' avec son aide que j'ai réussi à obtenir des injections chez des escargots, où la masse injectée par le ventricule revint sur le poumon et s'écoula par l'oreillette.

Il est à remarquer que cette méthode appliquée aux invertébrés n'a pas l'inconvénient existant chez les vertébrés et consistant en coagulation du sang, celui des invertébrés ne se coagulant pas.

Quant aux vertébrés j'ai commencé à leur appliquer cette méthode d'injection, pour ainsi dire tardive, depuis relativement peu de temps, y ayant été amené par un hazard. J'avais essayé d'injecter un embryon de chat avec son placenta, embryon extrait de la matrice 2—3 jours après la mort de la chatte. Les tissus embryonnaires étant très délicats et subissant très facilement la macération, je espérais point que l'injection réussissait. Elle me réussit cependant presque à ne pas exiger mieux. Une autre expérience a été faite à la station zoologique de Mourman (1906). J'ai injecté des Raies qui étaient mortes 5—7 jours auparavant, et cependant la masse, injectée par le cône artériel, avait facilement pénétré à travers les branchies dans le système artériel du corps et s'y était parfaitement distribuée.

Ces deux expériences dues au hazard m'ont poussé à étudier cette question plus soigneusement. J'en étais d'autant plus curieux que je n'avais pu trouver nulle part des indications relatives

---

[1]) Il faut remarquer que cette étude a été faite à Pétersbourg, c'est à dire dans une chambre dont la température moyenne de la était de 15°—17° C.

à cette méthode. Il est d'ailleurs vrai que ce sont les cadavres humains qui sont soumis à l'injection dans un état de conservation plus ou moins douteux[1]. Mes expériences ont principalement été faites sur des grenouilles, des reptiles, des oiseaux et des mammifères, et un peu sur des poissons.

Il faut d'abord rappeler que lorsqu'on parle de l'injection des vertébrés on doit distinguer entre l'injection du système artériel et celle du système veineux, les deux présentant des conditions et des difficultés différentes.

L'animal étant mort, les artères sont presque complètement vides, car à cause de leur grande contractilité tout le sang se réunit dans les veines, du moins quand on tue l'animal au chloroforme. La quantité de sang qui reste dans les artères est si minime qu'elle n'empêche point l'injection. Il en est tout autrement dans les veines où se rassemble le sang de tout le corps. Si l'on veut injecter le système veineux, on doit laisser s'écouler le sang pour que les veines soient vides, et mieux on a exécuté cette opération, mieux l'injection réussit.

Cette opération est bien difficile à cause de la prompte coagulation du sang, (dans les différentes classes d'animaux il se coagule avec une rapidité différente). Cela constitue la première difficulté de l'injection du système veineux. Une autre difficulté consiste en ce que les parois des veines, surtout dans des animaux de petite taille, sont relativement bien minces et, par conséquent, ne permettent pas d'augmenter la pression de la masse injectée jusqu'au degré nécessaire pour remplir complètement les vaisseaux. Des ruptures peuvent survenir d'autant plus facilement que le sang coagulé y forme des bouchons. Il paraîtrait donc qu'une injection des artères devrait être bien plus facile à cause de l'épaisseur de leurs parois et aussi parce qu'elles sont presque vides. Mais en vérité cela n'est pas; car on connaît bien la contractilité énorme que possèdent les artères, et c'est cette contractilité qui empêche presque complètement la masse injectée de pénétrer dans les vaisseaux, et si l'on n'emploie pas quelque remède contre ce mal, les parois des artères éclatent encore plus facilement que celles des veines. L'emploi d'*Amylium nitratum* (Amylnitrit) d'après Oviatt et Sergent[2] peut remédier à ce mal, mais il ne m'a pas paru être un remède parfait, d'autant plus que

---

[1]) Stieda 1883.

[2]) Oviatt and Sergent. 1887.

cette substance rend insoluble la masse gélatineuse, que j'emploie habituellement. Je préfère employer pour le même but le peptone (Peptonum siccum) qui a la propriété d'agir comme dilatateur des vaisseaux sanguins et de préserver en même temps le sang de la coagulation. L'emploi de cette matière a, par conséquent, deux avantages. Je l'emploie en solution aqueuse saturée que j'injecte dans le cœur, dans la partie artérielle et veineuse en quantité dépendant de la grosseur de l'animal. On pourrait aussi produire le même effet en détruisant le centre vasomoteur.

L'injection que j'ai ci-dessus appelée tardive facilite justement l'injection du système artériel, tandis que celle du système veineux est généralement rendue ainsi plus difficile, car le sang coagulé remplissant les veines y constitue un obstacle presque insurmontable. Mais, comme on le verra plus loin, il n'est pas absolu et cela dépend en grande partie de la nature de l'animal opéré et du temps écoulé entre le moment de la mort et celui de l'injection.

Pour une injection tardive des artères le meilleur moment vient quand la rigidité cadavérique cesse. Il ne faut que préserver l'animal (principalement le mammifère) de l'autodigestion de l'estomac. Pour y parvenir on doit conserver l'animal à une température basse.

A ce moment tous les tissus sont complètement morts; les parois des artères ne résistent plus à la masse qui y pénètre et par conséquent l'injection n'en provoque pas de rupture. D'autre part les tissus sont encore tout à fait frais, la décomposition n'y ayant pas encore touché.

C'est la règle pour tous les vertébrés.

Mais en même temps l'injection des veines est complètement impossible à ce moment, car elles sont remplies de sang, qui est tout à fait coagulé. Pour pouvoir les injecter on doit attendre le moment suivant, c'est à dire que la décomposition soit commencée. A ce moment le sang se liquéfie partiellement ou presque totalement, et alors on réussit même à faire de très bonnes injections doubles, qui peuvent servir aux études les plus minutieuses et les plus détaillées. Mais là encore les résultats de l'injection varient selon la race de l'animal. On obtient de meilleurs résultats en injectant tardivement les reptiles. Tous les reptiles que j'ai eu la chance d'opérer: les lacertiles, les ophidiens, les tortues et les crocodiles présentaient pour l'injection la même facilité deux ou trois jours et même plus après leur mort. J'ai réussi à obtenir de belles injections doubles sur des orvets, dont la décomposition était si avancée qu'ils

répandaient une odeur épouvantable. Les grenouilles occupent la seconde place dans cette ordre d'idées; on obtient chez elles à l'aide de cette méthode des injections plus que suffisantes. D'après mes études les mammifères et les oiseaux, surtout ces derniers conviennent moins à ce genre d'injection, car les veines restent trop remplies de caillots de sang coagulé. Quant aux poissons (téléostéens) la finesse des parois de leurs veines y joue un grand rôle. Mais si on peut obtenir des injections doubles qui puissent satisfaire parfaitement les exigences d'une investigation anatomique, il est bien plus facile d'obtenir des injections complètes en une couleur, c'est à dire les veines étant injectées par la masse qui y pénètre des artères. Pour y bien réussir il faut que la décomposition ne soit pas trop avancée; cette condition paraît être nécessaire.

On n'a qu'à préparer une masse à injection avec toutes les précautions qui sont décrites dans l'étude déjà citée et à l'injecter dans les artères par le tronc artériel. La masse pénètre dans les artères les plus ténues et passe de là dans les veines. Puis pénétrant dans les veines dans le sens centripète elle réussit à les remplir mieux que lorsqu'elle y pénètre dans le sens opposé. C'est ordinairement dans la tête et les extrémités qu'arrive cette pénétration de la masse dans les veines à travers les artères.

On se demande maintenant quelle est la valeur de cette méthode et quelles en sont les applications.

Si l'on n'admet pas la valeur de l'injection en général[1], on n'admettera pas d'avantage la valeur de l'injection tardive. On a donc mis en doute les résultats obtenus par M. Jaquet (1885) parce qu'il a injecté les Hirudinés tardivement. Quant à moi tous les reproches qu'on fait à la méthode d'injection ne me paraissent être qu'un parti pris, car toutes les belles études du passé (Lacaze-Duthiers, Hyrtl) n'ont été faites qu'à l'aide de cette méthode. Elle se place dans la série des méthodes d'investigations anatomiques et histologiques aussi bien que toute autre méthode de coloration élective. On ne connaît pas de meilleure méthode pour faire ressortir les vaisseaux, et si on lui reproche de pouvoir donner des résultats erronés, on peut en dire autant de toute autre méthode. On peut voir, pas exemple, dans les derniers travaux de Goldschmidt (1909) l'opinion de l'auteur sur la méthode du Bleu de Méthylène. Et d'autre part on n'a qu'à lire l'excellente étude de M. Favaro (1905) pour se rendre compte qu'il

[1] Vialleton 1903.

n'aurait pu réussir s'il n'avait pas pratiqué des injections. Un auteur doit s'entourer de toutes garanties pour éviter des fautes possibles ici comme partout.

Quant à l'injection tardive, on comprend bien que ce n'est qu'une méthode tout à fait anatomique et non pas histologique, mais elle donne des résultats qui peuvent servir même aux études microanatomiques.

Donc, je dois dire en résumé que la méthode d'injection tardive présentant, même comme méthode d'investigation anatomique, des avantages en comparaison de l'injection ordinaire, peut être appliquée avec grand succès aux études du système artériel, même quand il s'agit des vertébrés. Quant aux invertébrés c'est la méthode générale qui donne les meilleurs résultats possibles.

Outre cela cette méthode pratiquée sur les vertébrés peut avoir un sens particulier, puisque toutes les fois qu'on fait une injection tardive sur un animal donc la décomposition est plus ou moins avancée, on réussit à injecter en même temps les vaisseaux lymphatiques, surtout dans l'intestin. Malheureusement pour l'instant je ne peux rien dire de plus car je n'ai pas encore étudié ces relations, mais ce fait me paraît avoir quelque intérêt.

Quant aux injections tardives (nous ne parlons pour l'instant que des vertébrés) on comprend bien qu'il n'est pas nécessaire de les appliquer là, où on peut pratiquer une injection ordinaire. Mais il arrive souvent qu'on ne reçoit l'objet de l'investigation que quelque temps après la mort. Et ce serait une grande erreur de croire que l'animal serait impropre à être injecté, car l'injection tardive peut donner d'excellents résultats.

Cela est particulièrement appliquable à l'étude des monstres en général et des monstres doubles par excellence, dont l'étude du système circulatoire présenterait un grand intérêt; mais malheureusement ces monstres étant généralement peu viables, l'investigateur ne les obtient qu'après leur mort, et c'est probablement là qu'il faut chercher la raison pour laquelle dans un grand nombre de descriptions tératologiques on ne rencontre pas de descriptions du système circulatoire des sujets étudiés.

23 Septembre 1909. Simféropol (Crimée).

[Eingegangen am 1. Oktober 1909.]

Referate.

1. Mikrophotographie und Projektion.

Lüppo-Cramer, Kolloidchemie und Photographie. Dresden (Theodor Steinkopff) 1908. 8° VI + 154 pp., 2 Figg., 3 Tfln.). 5 M.

In vorliegendem Buche wird zum ersten Male der Versuch gemacht, einerseits den Photochemiker für das Spezialgebiet der Kolloide zu interessieren, anderseits die wissenschaftlich auf dem Gebiete der Kolloide arbeitenden Chemiker auf das reiche Arbeitsfeld aufmerksam zu machen, das sich ihnen in den mannigfaltigsten photographischen Fragen auftut. Aber auch jedem Photographierenden, der die Sache etwas ernster betreibt, wird manches Interessante und Nützliche geboten. Der erste Teil des Buches gibt eine kurze Einführung in die allgemeine Chemie der Kolloide: es wird die Natur der Sole und Gele nach den maßgebenden Forschungen auf diesem Gebiete besprochen und auf die Struktur der Kolloide eingegangen. Dem Zwecke des Buches entsprechend, wurde der größere Umfang für den zweiten, den speziellen Teil, der der Anwendung der Kolloidchemie auf photographische Fragen gewidmet ist, reserviert. Die ersten Kapitel dieses Teiles befassen sich mit dem kolloiden Silber und den kolloiden Formen der Silberhaloide, die weiteren mit den Photohaloiden und dem latenten Lichtbild als Adsorptionsverbindungen, ferner mit der Adsorption von Halogen durch die Silberhaloidgele, wobei auf Solarisation und Abklingen der Lichtwirkung eingegangen wird. Das vorletzte Kapitel behandelt dann die Adsorptionsverbindungen des Silbergeles und die Natur der fertigen Bildsubstanz, das letzte Gerbung und Adsorptionsverbindungen der Gelatine sowie anderer organischer Kolloide. *E. Schoebel (Neapel).*

2. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

A. Niedere Tiere.

Jonescu, C. N., Vergleichende Untersuchungen über das Gehirn der Honigbiene (Jenaische Zeitschr. f. Naturw. Bd. XLV, 1909, p. 111—180 m. 13 Figg. u. 5 Tfln.).

Als bestes Fixierungsmittel für jüngere Puppen ergab sich 3prozentige Salpetersäure, für weiter entwickelte das Gemisch von Hennings, in der aber schwächere Salpetersäure als in der Originalvorschrift verwandt wurde. (8 Teile 3prozentiger Salpetersäure, 8 Teile $^1/_2$prozentiger Chromsäure, 12 Teile gesättigte Lösung von Sublimat in 60prozentigem Alkohol, 6 Teile gesättigte wässerige Lösung von Pikrinsäure und 21 Teile absoluter Alkohol.) Ebensogute Resultate für die Nervenfasern gab das Flemmingsche Gemisch. Die gewöhnlichen Präparate wurden mit Hämatoxylin und Ammoniumrubinpikrat nach Apáthy oder mit Bleu de Lyon-Ammoniumpikrat gefärbt. Als spezielle Methode wurde die Silberimprägnation nach Ramón y Cajal und die nach Bielschowsky und Wolff herangezogen.

E. Schoebel (Neapel).

Dietrich, W., Die Facettenaugen der Dipteren (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCII, 1909, p. 465—539 m. 17 Figg. u. 4 Tfln.).

Die Tiere wurden unmittelbar nach dem Fange, eventuell nach Durchstechung der Chitinhülle, in die Fixierungsflüssigkeit gebracht. Hierzu kam fast ausschließlich und mit sehr gutem Erfolg ein Gemisch von 6 Teilen käuflichem Formol, 15 Teilen 96prozentigem Alkohol, 1 Teil Eisessig und 30 Teile destilliertes Wasser zur Verwendung. Die Objekte blieben in dieser Flüssigkeit über Nacht und wurden dann in 70prozentigen Alkohol gebracht. Zum Entpigmentieren verwandte Verf. verdünntes Königswasser (150 Teile Wasser, 3 Teile Salzsäure, 3 Teile Salpetersäure) oder für hartnäckige Fälle ein Gemisch von 1 Teil Glyzerin, 20 Teile 80prozentigen Alkohol mit geringem oder stärkerem Zusatz von Salzsäure. Vielfach jedoch war ein Entpigmentieren weder notwendig, noch erwünscht. Von Färbemitteln bewährte sich Hämalaun, besonders für frisch konserviertes Material, sehr gut, da es das natürliche Pigment wenig

verändert. Eisenhämatoxylin nach Heidenhain schwärzt leicht zu sehr und verändert auch die Farbe des Pigmentes.

E. Schoebel (Neapel).

Gläser, H., Zur Entwicklungsgeschichte des Cysticercus longicollis Rud. (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCII, 1909, p. 540—561 m. 1 Fig. u. 2 Tfln.).

Die Tiere wurden in Pikrinessigsäure, Sublimat, Chromosmiumsäure oder Formol fixiert. Die besten Resultate wurden mit Sublimat und Formol erzielt. Da Totalpräparate nicht alle Stufen der Entwicklung mit genügender Deutlichkeit verfolgen ließen, mußten auch Schnitte angefertigt werden. Die Objekte wurden mit Boraxkarmin vorgefärbt und stark mit Salzsäurealkohol ausgezogen. Es tritt dann nach dem Einbetten der Kopfzapfen deutlich hervor und gestattet ein sicheres Orientieren. Für das Nachfärben der Schnitte gab Hämatoxylin nach Delafield in Verbindung mit Eosin sehr gute Resultate. Es empfahl sich die Schwanzblase schon vor der Färbung mit Boraxkarmin anzustechen, um Schrumpfung zu vermeiden. Auch ist Benzol dem Xylol als Vorharz bei der Paraffineinbettung vorzuziehen. *E. Schoebel (Neapel).*

Sterling, St., Das Blutgefäßsystem der Oligochäten. Embryologische und histologische Untersuchungen (Jenaische Zeitschr. f. Naturwiss. Bd. XLIV, 1909, p. 253—352 m. 16 Figg. u. 9 Tfln.).

Sowohl für die entwicklungsgeschichtlichen als auch die histologischen Untersuchungen diente außer der Beobachtung lebender Objekte in ausgiebiger Weise vor allem die Schnittmethode. Die embryologische Technik bot gewisse Schwierigkeiten. Die Dottermassen, mit welcher die Embryonen reichlich gefüllt sind, bereiten beim Schneiden öfters große Schwierigkeit. Es empfahl sich deshalb die Doppeleinbettung mit Celloïdin und Paraffin. In einigen Fällen wurde nach der Jordanschen Methode verfahren (vgl. diese Zeitschr. Bd. XVII, 1900, p. 193), in anderen wurden ganz einfach die Celloïdinblöcke wie gewöhnliche Objekte in Paraffin eingebettet, und es ließen sich aus solchem Material oft recht gute Schnitte von 5 bis 10 μ herstellen. Weiter bediente sich Verf. noch folgender Nelkenöl-Kollodiummethode: Die Embryonen kommen aus absolutem Alkohol für etwa 2 Stunden (nicht länger!) in Nelkenöl, dann in eine Mischung, die halb aus Nelkenöl, halb aus Kollodium, besteht. Hierin bleiben

die Objekte einen bis 3 Tage, je nach Größe. Dann wird jedes einzelne zusammen mit einem Tropfen des Nelkenöl-Kollodiums auf ein kleines Stück Glas gebracht, unter der Lupe oder dem Mikroskope orientiert und schließlich mit einem Tropfen der Mischung bedeckt in Xylol eingelegt, worin es so lange verweilen muß, bis die schwache Trübung des Nelkenöl-Kollodiums verschwunden ist (etwa 2 Stunden). Dann entfernt man möglichst alles überflüssige Kollodium und legt den kleinen Block zusammen mit dem Glasstücke, auf dem es haftet, in Paraffin zur definitiven Einbettung. Nach Beendigung derselben schneidet man von der unteren Glasseite alles Paraffin weg und legt den übrigen Block in kaltes Wasser. Nach einiger Zeit (2 bis 3 Stunden) manchmal erst nach einem Tage, läßt sich das Glas abheben und das Objekt ist zum Schneiden fertig.

Was die Fixierung des Materials betrifft, so wurden die freipräparierten Embryonen gewöhnlich mit Perényscher Flüssigkeit oder Sublimat-Eisessig behandelt, ferner aber auch die beiden von Bergh angegebenen Methoden — die eine mit Flemmingscher Flüssigkeit und Platinchlorid und die andere mit Versilberung — angewandt. Die von Vejdovsky für seine Untersuchungen ausschließlich benutzte Chromsublimatmischung gab durchaus keine befriedigenden Resultate.

Als Färbungsmittel der Embryonen wurde Böhmers Hämatoxylin oder Hämalaun mit Nachfärbung in Eosin oder Erythrosin angewandt, seltener Eisenhämatoxylin kombiniert mit Safranin und Boraxkarmin (in toto) mit Pikrinsäure- oder Bleu de Lyon-Nachfärbung. Van Giesonsches und Ehrlich-Biondisches Gemisch gaben für embryonales Material wenig befriedigende Resultate. Für die Untersuchung der histologischen Verhältnisse bei erwachsenen Tieren aber wurden mit der Van Giesonschen Methode bei vorhergehender Kernfärbung mit Hämalaun oder Hämatoxylin recht gute Resultate erzielt. Besonders ist sie für die größeren Gefäße zum Nachweis der Intima zweckmäßig. Um den Verlauf der Muskelbündel und der einzelnen Muskelfasern sowie die Struktur der Sarkoplasmen näher zu studieren, wurde Eisenhämatoxylinfärbung kombiniert mit Eosin, Erythrosin, Lichtgrün oder Rubin angewandt; auch Apáthys Hämateïn und das Ehrlich-Biondische Gemisch gab für diese Zwecke oft gute Bilder. Zur Untersuchung der Elastika wurde Orceïn benutzt.

Schließlich ist noch zu erwähnen, daß vor der Fixierung bei allen erwachsenen Tieren Betäubung mit schwachem Alkohol angewandt wurde. *E. Schoebel (Neapel).*

Loeser, R., Beiträge zur Kenntnis der Wimperorgane (Wimpertrichter) der Hirudineen (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCIII, 1909, p. 1—63 m. 6 Figg. u. 3 Tfln.).

Die Untersuchung wurde teils an lebendem, teils an fixiertem Material ausgeführt. Als Fixierungsflüssigkeit dienten 96prozentiger Alkohol, konzentrierte Sublimatlösung, kalt oder heiß, Sublimat-Essigsäure, Pikrin-Schwefelsäure, $^1/_4$ bis einprozentige Lösung von Osmiumsäure und schließlich Chrom-Osmium-Essigsäure. Die Osmiumgemische erwiesen sich besonders zur Darstellung von Wimpern, Zellgrenzen und Zellstrukturen geeignet, zeigten aber die bekannten Schwierigkeiten für die Färbung. Die Fixierungsmittel wurden teils direkt, teils nach Betäubung der Tiere mit schwachem (10- bis 15prozentigem) Alkohol, einer etwa 5prozentigen Lösung von Chloralhydrat oder Chloroformwasser angewendet. Erwies es sich als nötig einige Organe, z. B. Hoden, frei zu präparieren, so geschah dies stets am lebenden Tier unter $^3/_4$prozentiger Kochsalzlösung.

Die fixierten Tiere wurden dann verschiedenen Färbungen unterworfen. Zur Verwendung gelangten: Delafields Hämatoxylin, allein oder kombiniert mit Eosin, ferner — als besonders geeignet zur Färbung im Block — Hämatoxylin-Kaliumchromat (erst Behandlung mit 0·1prozentigem wässerigen Hämatoxylin 24 Stunden, dann etwa die gleiche Zeit mit 0·1prozentiger Kaliumchromatlösung). Die letzte Färbung gibt auch nach Fixierung mit osmiumsäurehaltigen Flüssigkeiten sehr gute Bilder. Für Totalpräparate wurde auch Alaunkarmin verwandt.

Paraffinschnitte wurden entweder ungefärbt auf dem Objektträger nach der von Schuberg angegebenen Methode mit Dahlia, Tannin und Brechweinstein behandelt, oder das Stück mit Boraxkarmin vorgefärbt. Die Nachfärbung erfolgte dann entweder ebenfalls im Block nach dem Hämatoxylin-Kaliumchromatverfahren oder auf dem Objektträger mit Bleu de Lyon, eventuell noch mit Bismarckbraun, welches sich als Differenzfarbe für Botryoidzellen gut geeignet zeigte, oder mit Osmiumsäure und Holzessignachbehandlung. Die schönsten Kontrastfärbungen wurden mit der Blochmannschen Lösung (0·5 g triphenylrosanilintrisulfosaurem Natrium und 0·25 g Pikrinsäure gelöst in 100 cc Wasser, versetzt mit der 40fachen Menge einer konzentrierten wässerigen Pikrinsäurelösung) erzielt. Hierbei zeigten sich Epithelien und Muskeln grün, Nephridialzellen gelblich und das Bindegewebe blau gefärbt. Gerade zur Auffindung und Erkennung des letzteren leistete diese Methode unschätzbare Dienste. Bilder von noch größerer

Klarheit wurden erzielt, wenn zu dieser Färbung Präparate verwendet wurden, welche mit etwa $^1/_2$prozentiger Osmiumsäure und Holzessig vorbehandelt waren, da hierdurch die Zellgrenzen sehr deutlich wurden, selbst in Geweben, die bei anderen Färbungen den Eindruck eines Syncytiums machten. Zur Klarstellung gewisser feinerer Einzelheiten wurden auch Schnittfärbungen mit Eisenhämatoxylin-Säurefuchsin angefertigt.

Zum Studium der einzelnen Zellelemente dienten Mazerationspräparate, die durch Schütteln von Organen gewonnen wurden, welche mit Sublimat fixiert und dann auf dem Wasserbade bis zum sichtbaren Zerfall gekocht waren.

Um eine gute Übersicht über die Topographie der Tiere zu erhalten, wurden neben den Totalpräparaten 30 bis 100 μ dicke Celloïdinschnitte quer, frontal und sagittal angefertigt und mit Boraxkarmin oder Hämatoxylin gefärbt. Zum Aufkleben derselben diente das Linimentum exsiccans Pick. (vgl. diese Zeitschr. Bd. XX, 1903, p. 288, Fischel). Um Aufschluß über die Verhältnisse des Blutgefäßsystems und des Lakunensystems sowie ihre Beziehungen zueinander und zu den Wimperorganen zu erhalten, wurden Injektionen mit löslichem Berlinerblau angefertigt. Es wurde dazu ein Spraygebläse und sehr fein ausgezogene Glaskanülen, die vorn stumpf- bis rechtwinklig abgebogen waren, verwandt. Man kann dabei seine Aufmerksamkeit besser, als bei Gebrauch einer Pravazspritze, auf die richtige Führung der Kanüle richten, während die andere Hand den Druck regelt. Bei Hirudo und Haemopsis wurde dabei gewöhnlich vom Bauchsinus aus injiziert. Hierzu wurde der Sinus an einem Ganglion geöffnet, letzteres nebst einem Teil des Bauchmarkes herausgezogen und abgeschnitten. In den nun freien Raum wurde die Kanüle eingeführt und während der Injektion mit der Pinzette festgehalten. Bei Herpobdella und den Rhynchobdelliden wurde die feine Kanüle vorsichtig an der Seite eingestochen und dann ein gewisser Druck auf das Gebläse ausgeübt. Sobald man nun mit der Spitze der Kanüle das Seitengefäß ritzt, was sich unter der Lupe sehr leicht kontrollieren läßt, erfüllen sich die Gefäße fast sofort bis in die feinsten Kapillaren mit der Injektionsmasse. Es empfiehlt sich hierbei, die Tiere nicht zu betäuben, da sie sich sonst oft unregelmäßig zusammenziehen und weil sich die Gefäßwandungen oder wenigsten verschiedene Sphincteren derart kontrahieren, daß ein Eindringen der Injektionsmasse erschwert, ja ganz unmöglich wird. Die Injektionen wurden unter physiologischer Kochsalzlösung oder besser ohne jede umgebende Flüssigkeit aus-

geführt, da eine solche durch das Berlinerblau, welches sich in ihr verbreitet, das Beobachten verhindert. Ein Teil der injizierten Tiere wurde — in Paraffin oder Celloïdin eingebettet — zu Schnittserien verarbeitet. Die Färbung wurde dann im Stück, gewöhnlich mit Boraxkarmin vorgenommen. Zum Aufkleben der Schnitte wurde statt Wasser Glyzerineiweiß oder das Linimentum exsiccans verwandt.

E. Schoebel (Neapel).

des Arts, L., Über die Muskulatur der Hirudineen (Jenaische Zeitschr. f. Naturw. Bd. XLIV, 1909, p. 415—464 m. 3 Tfln.).

Als Untersuchungsobjekte dienten hauptsächlich Pontobdella muricata, Branchellion torpedinis und Piscicola geometra. Die Tiere wurden durch Zusatz von Alkohol zum Wasser betäubt und dann in kalter Sublimatlösung fixiert. Zur Färbung der nach Paraffineinbettung hergestellten Schnitte diente in ausgiebiger Weise die van Giesonsche Dreifachfärbung, welche für die Untersuchung der Muskulatur ganz besonders geeignet ist. Gute Resultate gab auch Heidenhains Eisenhämatoxylin, Delafields Hämatoxylin kombiniert mit Eosin oder Erythrosin. Versuche mit Apáthys Hämateïn fielen sehr ungleich aus, da es außerordentlich schwer hält eine richtige Differenzierung zu erzielen. Außerdem wurden Mazerationspräparate von Muskelfasern durch Behandlung mit 20prozentiger Salpetersäure hergestellt und in Wasser oder verdünntem Glyzerin untersucht.

E. Schoebel (Neapel).

Zielinska, J., Über Regenerationsvorgänge bei Lumbriciden. Regeneration des Hinterendes (Jenaische Zeitschr. f. Naturw. Bd. XLIV, 1909, p. 467—526 m. 3 Figg. u. 5 Tfln.).

Die operierten Würmer, denen meist das hintere Drittel abgeschnitten war, wurden teils in Lauberde oder Kaffeesatz aufbewahrt, teils aber in feuchter Leinwand, was sich als besonders praktisch erwies. Die Würmer halten sich darin sehr gut, und die Regenerate sind direkt für Paraffinschnitte verwendbar. Im Winter wurden die Würmer im Thermostaten von 22 bis 25° C gehalten. Vor der Fixierung wurden die Tiere mit Alkohol betäubt, der vorsichtig dem Wasser, in dem sie sich befanden, tropfenweise zugesetzt wurde. Dann wurde das Regenerat samt ein paar alten Segmenten abgeschnitten und in das Fixierungsgemisch gebracht. Als solche

dienten: wässerige Sublimatlösung, Sublimat-Alkohol nach Apáthy, Chromsublimat nach Vejdovsky, Perényische Flüssigkeit und die Gemische von Flemming und Hermann. Die Schnitte wurden meist mit Hämalaun, Böhmers oder Ehrlichs Hämatoxylin gefärbt unter Nachbehandlung mit Erythrosin oder nach Van Gieson, ferner mit Apáthys Hämateïn und Eisenhämatoxylin kombiniert mit Erythrosin oder Lichtgrün. Die besten Resultate wurden mit Perényischer Fixierung und Eisenhämatoxylin-Färbung und für Muskel- und Bindegewebsdifferenzierung mit der Van Giesonschen Säurefuchsin-Pikrinsäure-Färbung erhalten. *E. Schoebel (Neapel).*

Watkinson, G. B., Untersuchungen über die sogenannten Geruchsorgane der Cephalopoden (Jenaische Zeitschr. f. Naturw. Bd. XLIV, 1909, p. 353—414 m. 47 Figg. u. 2 Tfln.).

Die Untersuchung am lebenden Tiere zeigt ohne weiteres die starke Flimmerung der Oberfläche des „Geruchsorgans“ und die muskulöse Kontraktion der Haut an dieser Stelle. Zerzupfen von frischem Gewebe oder Isolierung der Epithelelemente durch Einlegen für einige Stunden in Seewasser mit einer Spur Flemmingscher Flüssigkeit (auf 25 cc Seewasser 2 Tropfen) und Färbung des Stückes mit Karmin oder Hämatoxylin gaben bei Untersuchung in Glyzerin interessante Aufschlüsse über die äußere Form der Zellen. Die feineren Details der Zellstruktur waren aber nur mit der Schnittmethode darzustellen. Die besten Präparate für histologische Untersuchung wurden durch Fixierung in starker Flemmingscher Flüssigkeit und Färbung der Schnitte mit Heidenhains Eisenhämatoxylin kombiniert mit Eosin, Safranin oder auch Karmin erhalten. Andere Färbemittel, wie Delafields Hämatoxylin mit Orange G usw. zeigten sehr gut die allgemeine Struktur des Gewebes, nicht aber die Details der Zellen. Eine vorsichtige Behandlung der Objekte ist immer geboten, um ein Abfallen der Flimmerhaare zu vermeiden. Bei den taschenförmigen Organen, besonders wenn diese sich im kontrahierten Zustande befanden, erwies es sich vorteilhaft, bald nach dem Einlegen in die Fixierungsflüssigkeit die Wandung aufzuschneiden. Wiederholte Versuche mit den neueren Imprägnationsmethoden zur Darstellung der Nervenfibrillen waren ohne Erfolg. Im Zentralnervensystem waren durch Vergoldung die Faserbahnen gut demonstrierbar, aber außerhalb desselben färbten sich Bindegewebe, Nerven und Epithelzellwände immer ganz gleich, so daß eine Feststellung des

Verhaltens der feinsten Nervenendigungen zu den Epithelzellen unmöglich war. *E. Schoebel (Neapel).*

Naef, A., Die Organogenese des Cölomsystems und der zentralen Blutgefäße von Loligo (Jenaische Zeitschr. f. Naturw. Bd. XLV, 1909, p. 221—266 m. 14 Figg. u. 3 Tfln.).

Da sich die Eier von Loligo, in einem Aquarium mit fließendem Seewasser untergebracht, ganz normal bis zum Ausschlüpfen entwickeln, ist es verhältnismäßig leicht, eine vollständige Reihe von Entwicklungsstadien zu erhalten. Die Embryonen wurden, nachdem sie mit Nadel und Schere von Gallerte und Kapsel befreit waren, in Zenkersche Flüssigkeit, Pikrinsalpetersäure und Seewasser-Sublimatessigsäure (5 Prozent Sublimat, 5 Prozent Essigsäure in Seewasser) fixiert. Für die Aufbewahrung fertig behandelter Embryonen dient am besten Zedernholzöl. Das Schneiden der jüngeren Stadien gelang in jeder Schnittdicke bei einfacher Paraffineinbettung ohne weiteres. Ältere Stadien bereiteten größere Schwierigkeiten; jedoch gelang es bei einiger Sorgfalt auch da ohne besondere Hilfsmittel tadellose Serien zu erhalten. Die Färbung der Schnitte geschah vorzugsweise so, daß im Stück mit Hämalaun vorgefärbt wurde, und die Schnitte dann eine Differenzierung und Nachfärbung mit Orange G erhielten. Um eine allgemeine Übersicht der Organisation zu erhalten, kann man fixierte ganze Embryonen ungefärbt in Nelkenöl, Zedernholzöl oder Kanadabalsam betrachten. Unvergleichlich günstiger aber ist die fortwährende Untersuchung lebender Embryonen. Infolge ihrer Durchsichtigkeit und Zartheit kann man schon an frühen Stadien, besonders aber an mittleren, manche Details des inneren Baues erkennen, namentlich aber einen Überblick über die Topographie gewinnen, was für die spätere Untersuchung der Schnittserien zur Orientierung von großem Nutzen ist. Auch die Tätigkeit des Herzens, der Kiemenherzen der Chromatophoren kann ausgezeichnet beobachtet werden. Totalpräparate können die Untersuchung des Lebenden vor allem darum nicht ersetzen, weil die gewünschte Durchsichtigkeit auf Kosten der Deutlichkeit zu erreichen ist.

E. Schoebel (Neapel).

Kutschera, F., Die Leuchtorgane von Acholoe astericola Clprd. (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCII, 1909, p. 75—102 m. 7 Figg. u. 1 Tfl.).

Als Fixierungsflüssigkeiten für das zur histologischen Untersuchung verwendete Material wurde Sublimat, Alkohol (80prozentig), Formol (4prozentig) und Osmiumsäure (einprozentig) gebraucht. Die besten Resultate für die histologischen Feinheiten gab Sublimat, bei einer 2 bis 4 Tage langen Einwirkung und sorgfältige Nachbehandlung mit Jodalkohol vorausgesetzt. Zur Färbung wurde verwendet: Delafields Hämatoxylin, kombiniert mit Orange, Heidenhains Eisenhämatoxylin, kombiniert mit Eosin, ferner Hämalaun, Mucikarmin, Thionin und Methylenblau. Zum Gelingen der Färbungseffekte der beiden letztgenannten Farbstoffe scheint Formolfixierung notwendig zu sein; man erhält damit gute Negativbilder des Nervennetzes und der Papillenbezirke in den Elytren: Nerven und Leuchtorgane bleiben hell auf violettem oder dunkelblauem Grunde. Die Entdeckung der Leuchtpapillen verdankt Verf. ausschließlich dem Mucikarmin. Versilberungs- und Vergoldungsmethoden zum Auffinden der feinsten Nervenverzweigungen gaben keine Resultate.

E. Schoebel (Neapel).

Taube, E., Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Euphausiden. 1. Die Furchung des Eies bis zur Gastrulation (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCII, 1909, p. 427—464 m. 6 Figg. u. 2 Tfln.).

Bei spärlichem Material empfiehlt es sich den ganzen Planktonfang zuerst durch Seidengaze zu filtrieren, ihn dann in kleinen Portionen unter der Lupe zu durchmustern und die interessierenden Objekte mit der Pipette herauszufangen. Wenn große Mengen Eier vorkommen, kann man sich das zeitraubende Aussuchen unter der Lupe sparen. Der filtrierte Fang wird in toto fixiert und dann in eine flache Glasschale über schwarzer Unterlage gegossen. Da sich jetzt die fixierten Eier sehr deutlich von dem übrigen Material abheben, kann man sie leicht mit bloßem Auge aussuchen. Die Fixation geschah hauptsächlich mit Bouinscher Lösung (15 Teile gesättigte wässerige Pikrinsäurelösung, 5 Teile käufliches Formol, 1 Teil Eisessig), in der sie 3 bis 5 Stunden blieben, um dann direkt in 70prozentigen Alkohol gebracht zu werden. Letzterer muß mehrere Male gewechselt werden, um die Pikrinsäure möglichst vollständig auszuwaschen. Zum späteren Gebrauch wurden dann die Eier in 96prozentigem Alkohol aufbewahrt. Die Färbung geschah fast ausschließlich mit Boraxkarmin; Pikrokarmin gab indessen ähnliche Resultate. Schnitte wurden bisweilen auch nach Heidenhain gefärbt.

Die Untersuchung wurde teils an durchsichtig gemachten Ganzpräparaten, teils an Schnitten ausgeführt. Die erste Methode kam hauptsächlich bei der Untersuchung der Furchungsstadien zur Verwendung. Zum Durchsichtigmachen der Eier diente Glyzerin oder Nelkenöl. Da letzteres die Objekte so brüchig macht, daß selten die genaue Untersuchung eines bestimmten Eies zu Ende geführt werden kann, wurde schließlich fast ausschließlich Glyzerin als Aufhellungsmittel benutzt. Die Überführung der Objekte aus dem Alkohol in Glyzerin ist mit allergrößter Vorsicht vorzunehmen, um Schrumpfungen nach Möglichkeit zu vermeiden. Es wurde gewöhnlich so verfahren, daß die Eier aus 70prozentigem Alkohol mittels des Senkverfahrens in ein Gemisch von 2 Teilen 70prozentigen Alkohol und 1 Teil Glyzerin übergeführt wurden. Das Probiergläschen mit den Eiern wurde dann offen stehen gelassen, wobei der Alkohol allmählich verdunstete und die Eier äußerst langsam in Glyzerin steigender Konzentration gelangten. Unter dem mit Wachsfüßchen versehenen Deckglas lassen sich die aufgehellten Eier in einem Tropfen Glyzerin durch vorsichtiges Schieben des Deckglases leicht hin- und herrollen und in jede gewünschte Lage bringen. *E. Schoebel (Neapel).*

Prowazek, S. v., Einführung in die Physiologie der Einzelligen (Protozoën) (Naturwissenschaft und Technik in Lehre und Forschung, herausgegeben von F. Doflein und K. T. Fischer). Leipzig u. Berlin (B. G. Teubner) 1910. Mit 51 Abbild. im Text. 172 pp. geb. 6 M.

Das vorliegende Buch bringt zum erstenmal eine zusammenfassende Darstellung der Physiologie der Protisten. Eine erschöpfende Behandlung seines Themas hat der Verf. zwar nicht gegeben, auch nicht geben wollen; sein Verdienst liegt vor allem in der Anregung zu neuen Forschungen, die das Buch durch Diskussion der sehr zahlreichen neuen Untersuchungen über Zellenbau und Zellenleben der Protisten bringt. Bei dem geringen Alter, auf das die Protistenkunde als intensiv betriebene, fast schon selbständig gewordene biologische Disziplin zurücksehen kann, handelt es sich zum großen Teil um neue und neueste Arbeiten, deren Ergebnisse in dem vorliegenden Werk zur Sprache kommen.

Daß in einem Werk über einzellige Organismen die mikroskopischen Methoden eingehende Behandlung finden, versteht sich von selbst. Ich verweise besonders auf das, was Verf. über die Untersuchung des Protozoënprotoplasmas (p. 2 ff.), über den Kern und die

anderen — teils lebenden, teils leblosen — Inhaltskörper der Zelle (p. 14 ff.), sagt, sowie auf die Mitteilungen über die bei Protozoën beobachteten taktischen Erscheinungen.

Nur ungern vermißt man am Ende des Buches ein Sach- und Namenregister. *Küster (Kiel).*

B. Wirbeltiere.

Goldmann, E., Die äußere und innere Sekretion des gesunden Organismus im Lichte der „vitalen Färbung". Mit 15 lithograph. Tfln. Tübingen (Lauppsche Buchh.) 1909. 5 M.

In dieser ergebnisreichen und neue Perspektiven eröffnenden Arbeit, die das größte Interesse der biologischen Forscher beansprucht, hat der Verf. die histologischen Befunde nach bestimmten Vitalfärbungen bei Ratten und Mäusen in ihren physiologisch-normalen Zuständen niedergelegt, während er die Resultate ähnlicher Untersuchungen bei Tieren, die pathologische Veränderungen (insbesondere Geschwülste) darboten, für eine zweite Publikation in Aussicht stellt. Goldmann erfreute sich der Unterstützung Ehrlichs, auf dessen Rat er für die Vitalfärbung vornehmlich das Pyrrholblau benutzte.

Das Pyrrholblau wurde zuerst von Ehrlich dargestellt und entsteht durch Kondensation von Tetramethyldiaminobenzhydrol und Pyrrhol. Es ist in Wasser in jeder Konzentration löslich, ist aber aus dieser Lösung durch die für Gewebsfixationen gebräuchlichen Mittel (Alkohol, Formol, Sublimat, Chromsäure, Osmiumsäure, Molybdän) nicht zu fällen. Es ist den basischen Farbstoffen zuzuzählen, wirkt aber nicht absolut basisch.

Eine einprozentige wässerige Lösung wird (für je 20 g Körpergewicht 1 cc) subkutan injiziert und ohne jede Störung vertragen. Injektion in die Blutbahn führt den Tod herbei. Nach der subkutanen Injektion wird das eingespritzte Farbstoffdepot durch Streichmassage verteilt, was die Resorption außerordentlich begünstigt. Einige Stunden nach der Einspritzung wird blauer Harn abgeschieden, nach 2 bis 3 Tagen fangen Ohren, Schnauze, Schwanz, die Extremitäten, der Humor aqueus an sich blau zu färben. Diese Färbung nimmt allmählich etwas zu und erhält sich dann lange in der erreichten Intensität, um erst nach längerer Zeit zu verschwinden. Die Färbung

kann noch 10 Monate nach einer einmaligen Einspritzung nachweisbar sein. Goldmann verwandte in der Regel gehäufte Injektionen — 10 bis 12 bei Mäusen, 25 bis 30 bei Ratten in Abständen von 6 bis 8 Tagen. Die Färbung der Tiere, die er auf diese Weise erreichte, war eine hochgradige, ohne daß die Tiere dadurch in irgendeiner Funktion gestört worden wären. Selbst Begattung, Gravidität und Gebärakt verliefen in normaler Weise. Nur wurde auf die Dauer eine Abmagerung der Tiere bemerkbar.

In zweiter Linie benutzte Verf. für die Vitalfärbung das Isanaminblau in einprozentiger Lösung. Es wirkt zeitlich sehr ähnlich wie das Pyrrholblau, auch histochemisch, obgleich es exquisit saure Eigenschaften besitzt.

Drittens wurde Trypanblau verwendet. Dieser Stoff färbt in kurzer Zeit den ganzen Körper diffus blau, verläßt ihn aber ebenso schnell durch Niere und Darm.

Hieran schlossen sich Versuche mit Trypanrot und Neutralrot und Kombinationen in der Art, daß blau gefärbten Tieren Neutralrot (einprozentig wässerig) in allmählich steigender Dosis injiziert wurde.

Die mikroskopische Untersuchung der Organe und Gewebe geschah in lebenswarmem Zustand oder in fixierten Präparaten. Die Herstellung dieser letzteren hat folgendermaßen zu geschehen: Fixation des Tieres mit eröffneten Körperhöhlen oder der herausgenommenen Organe in 10prozentiger Formollösung, worin die Organe längere Zeit verbleiben können, ohne daß eine nennenswerte Entfärbung eintritt. Schneiden mit Kohlensäure-Mikrotom. Übertragen der Schnitte auf Objektträger, hier Kernfärbung mit Alaunkarmin. Für drüsige Organe war die Paraffineinbettung nicht zu umgehen, die nur in seltenen Fällen eine Diffusion des blauen Farbstoffs bewirkt.

Was nun die Resultate der Untersuchung betrifft, so kann von dem reichen Inhalt hier nur auf einige Hauptpunkte hingewiesen werden. Blutplasma, Kammerwasser, Fruchtwasser, Cerebrospinalflüssigkeit nehmen den Farbstoff auf (die letztere nur in geringerer Masse), während die zelligen Elemente des Blutes ungefärbt bleiben. Überall im Bindegewebe finden sich nach Pyrrholblauinjektionen sehr charakteristische Zellen mit hellblau gefärbten, kreisrunden, gleichmäßig großen Granulis verbreitet, besonders da, wo wichtige Stoffwechselprozesse sich abspielen (z. B. in der lactierenden Mamma). Verf. nennt sie Pyrrholzellen und erweist, daß sie von den Mastzellen ganz verschieden sind.

Eine große Affinität zum „Vital"-Farbstoff zeigen die Zwischenzellen des Hodens, die sauere Schicht der Membrana granulosa wachsender oder sprungreifer Eifollikel, während Keimepithel und Primärfollikel ungefärbt bleiben. In der Leber färben sich nur die Kupferschen Sternzellen, in den Blutlymphdrüsen, den Lymphdrüsen, der Milz die Reticulumzellen. In der Niere sind die Tubuli contorti lebhaft gefärbt; Glomeruli, Mark, Markstrahlen bleiben frei. In den Nebennieren ist nur die Rinde und hier am lebhaftesten die Zona glomerulosa gebläut. Das Darmepithel, die Muskelfasern, die Gefäße, das Zentralnervensystem nehmen keinen Farbstoff auf; jedoch färbt sich der Plexus chorioïdeus. Bei der Placenta tritt eine vitale Färbung des ganzen Dotterentoderms ein, und ferner in denjenigen ektodermalen Zellen des Foetus, die zu Riesenzellen (Angioklasten) und zu Begrenzungszellen der mütterlichen Bluträume werden. Die Deciduazellen bleiben ungefärbt. *O. Levy (Leipzig).*

Fischer, O., Über die Herkunft der Lymphocyten in den ersten Stadien der Entzündung. Experimentelle Studie (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XLV, 1909, H. 3, p. 400—423).

Verf. benutzte weiße Mäuse und weiße Ratten. Den Tieren wurden, um einen Entzündungsprozeß zu erzeugen, Fremdkörper unter die Haut des Rückens gebracht: Für eine aseptische Entzündung ausgekochte Holundermarkstückchen, für eine eitrige Entzündung Holundermarkstückchen, die einige Stunden vorher in Terpentinöl gelegt waren; auch reines Celloïdin wurde als Fremdkörper verwendet. Die Tiere wurden nach verschiedenen Zeiten durch Köpfen getötet. Die Präparate wurden zunächst im Zusammenhange mit dem unterliegenden Knochen gelassen und 24 Stunden in Müller-Formol (9 : 1) fixiert. Die Flüssigkeit wurde dabei immer auf Körpertemperatur gehalten. Dann 48stündige Härtung in Müllerscher Flüssigkeit, 24stündiges Auswässern, steigender Alkohol. Die von den Mäusen gewonnenen Präparate wurden in Paraffin eingebettet, die von den Ratten gewonnenen größtenteils in Celloïdin. Meist Schnittserien. Färbung: Hämatoxylin-Eosin, van Gieson; Unnas polychromes Methylenblau; Methylgrün-Pyronin nach Pappenheim; Methode mit dem Farbstoffe von May-Grünwald; Ehrlichs Triacid und die Methode der Lymphocyten-Granulafärbung von Altmann und Schridde. Letztere versagte allerdings wegen der Dicke der Schnitte (nicht unter 8 μ). *Schiefferdecker (Bonn).*

Schmincke, A., Die Regeneration der quergestreiften Muskelfasern bei den Säugetieren (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XLV, 1909, H. 3, p. 424—439 m. 1 Tfl.).

Untersucht wurden Katze, Hund, Igel, Eichhörnchen, Hamster, weiße Ratte, Meerschweinchen. Alle Tiere in zahlreichen Exemplaren. Die Wunddefekte bestanden in kleinen, mit scharfem Skalpell ausgeführten Querschnitten in die oberflächlichen Bündel der langen Oberschenkelmuskeln; ferner wurden zirkumskripte Verletzungen der Muskeln durch Einstechen mit einer glühenden Nadel herbeigeführt. Die Wunden wurden, um sie später leichter makroskopisch und mikroskopisch wieder auffinden zu können, mit Zinnoberkörnchen verunreinigt (nach Nauwerck). In verschiedenen Zeiträumen nach der Verletzung wurde die Operationsstelle mit dem umgebenden Gewebe dem eben getöteten Tiere entnommen und in lebenswarmem Zustande in Müller-Formol (9 : 1) fixiert. Einbettung in Paraffin. Die Untersuchung wurde an Serienschnitten vorgenommen, die mit den gewöhnlichen Methoden gefärbt waren. *Schiefferdecker (Bonn).*

Zürcher, L., Histologie der Körper- und Darmmuskulatur und des Hämocöls von Owenia (Jenaische Zeitschr. f. Naturw. Bd. XLV, 1909, p. 181—220 m. 4 Figg. u. 6 Tfln.).

Um möglichst einwandsfreie Resultate zu erzielen, wurden eine große Anzahl von Fixierungsmitteln probiert. Die besten Resultate ergab Sublimat-Essigsäure, Kaliumbichromat mit 5 Prozent Essigsäurezusatz und Müllersche Flüssigkeit. Bei Anwendung von Flemmingscher und Hermannscher Flüssigkeit ergab sich, daß die Schnitte äußerst leicht zerfielen. Zur Färbung wurden in erster Linie verschiedene Hämatoxyline gebraucht, nach Fixierungsflüssigkeiten mit Osmium Safranin. Zur Untersuchung von Muskelelementen und der Gefäßwandungen diente vor allem Eisenhämatoxylinfärbung. Als spezifisches Reagenz für bindegewebige Elemente lieferte die Mischung nach van Gieson, namentlich nach vorausgegangener Kernfärbung mit Ehrlichs Hämatoxylin immer einwandsfreie Bilder.

E. Schoebel (Neapel).

Tarapani, H., Zur Entwicklungsgeschichte des Hyobranchialskelettes von Salamandra atra Laur. und Triton alpestris Laur. (Jenaische Zeitschr. f. Naturw. Bd. XLV, 1909, p. 57—110 m. 6 Tfln.).

Junge Larven wurden hauptsächlich in der Rablschen Sublimat-Pikrinsäuremischung fixiert, für ältere Larven kam außerdem noch Chrom-Pikrinsäure, Sublimat-Chromsäure mit gutem Erfolg zur Verwendung. Sublimat allein gab keine guten Resultate, die Objekte wurden spröde und brüchig. Alles Material wurde nach der üblichen Alkoholbehandlung in Zedernholzöl übergeführt und darin aufgehoben. Bei der Einbettung wurde durch Anbringung einer Richtfläche darauf Rücksicht genommen, daß Rekonstruktionen ausgeführt werden konnten. Bei Herstellung derselben wurde im allgemeinen nach den Vorschriften von Peter verfahren. Der von letzterem zum Anstreichen der Richtebene empfohlene schwarze Schuhlack „Nubian water proof blacking“ erwies sich im allgemeinen als zweckentsprechend, nur muß man bei der Behandlung der Präparate darauf achten, daß dieses Präparat in absolutem Alkohol leicht löslich ist und auch den langen Manipulationen des Nachfärbens nicht standhält. Wo Nachfärbung unerläßlich war, wurde deshalb der mit Schnitten beschickte Objektträger für einen Augenblick in eine Mischung von gleichen Teilen absolutem Alkohol, Ätheralkohol und Kollodium eingetaucht, wodurch die Schnittserie mit einem Schutzhäutchen überzogen und so eine Nachfärbung ermöglicht wird; immer muß aber der absolute Alkohol vermieden und durch ein anderes Medium, z. B. Amylalkohol ersetzt werden. Für die Färbung in toto wurde Hämalaun, Ehrlichs Hämatoxylin und Boraxkarmin verwendet, für Nachfärbung der Schnitte zuweilen Bleu de Lyon. *E. Schoebel (Neapel).*

Wada, T., Über die Unterscheidung der Menschen- und Tierknochen (Vierteljahrschr. f. gerichtl. Medizin u. öffentlich. Sanitätswesen 3. F., Bd. XXXVII, 1909, H. 2, p. 265—278 m. 6 Figg.).

Die Tierknochen lassen sich von den Menschenknochen durch ihre Struktur unterscheiden. Man fertigt zur Untersuchung dünne Querschnitte an. Diese lassen sich nicht mehr herstellen, wenn die Knochen entweder sehr lange an der Luft oder in der Erde gelegen haben, oder verbrannt und dadurch sehr brüchig geworden sind. Verf. versuchte daher zunächst, verbrannte Knochen in Celloïdin einzubetten und dann nach vollständigem Trocknen mit einer feinen Säge und einem Schleifsteine Querschliffe anzufertigen, aber die Knochensubstanz zerbrach, bevor die genügende Dünne erreicht war. Verf. hat daher eine Einbettung in Gelatine versucht. Die verbrannten Knochenstückchen wurden in einem Becherglase mit etwas

Wasser auf einem Wasserbade erwärmt und es wurde allmählich Gelatine hinzugefügt, bis die Lösung eine sehr dicke, sirupöse Konsistenz bekam. Dann wurde die Lösung, wie bei der Paraffineinbettung, in eine Schale gegossen. Nach dem Erstarren wurde je ein Knochenstückchen samt einer Gelatineschicht herausgeschnitten und an der Luft oder besser im Schwefelsäuretrockenapparate vollständig ausgetrocknet. Die so in Gelatine eingebetteten Knochenstückchen wurden zuerst mit einer feinen Säge zersägt, dann mit gröberem und feinerem Schmirgelpapier möglichst dünn geschliffen und nach dem Aufhellen mit Xylol und nach Einschluß in Kanadabalsam unter das Mikroskop gebracht. Die Schnitte waren undurchsichtig, ließen sich aber gut bei auffallendem Lichte untersuchen. Die Knochenplatte bot durch die noch nicht veraschten Knochenpartikelchen ein bräunlich-schwarzes Aussehen, so daß die Zählung und Messung der Haversschen Kanäle ausgeführt werden konnte. Die Untersuchung gestaltet sich jetzt in folgender Weise: 1) Einbettung in Gelatine. 2) Die Masse wird mit einer feinen Säge in etwa 5 mm dicke Stücke zerlegt, welche eine gegen die Längsachse des Knochens rechtwinklig gerichtete Oberfläche haben. 3) Schleifen erst mit einem gröberen, dann mit feineren Schmirgelpapiere. 4) Schleifen mit einem feinsten Mattglase, auf welches Petroleum, Benzin oder Xylol geträufelt ist, bis die Oberfläche ganz glatt wird. 5) Einschluß in Kanadabalsam. Sieht der Knochen durch unvollständige Verbrennung tief schwarz aus, so verbrennt ihn Verf. aufs neue in einem Porzellantiegel, bis er dunkelgrau wird, und behandelt ihn dann wie oben. Wenn der Knochen vollständig weiß kalziniert ist, so müssen die Gelatine-Einbettungspräparate vor dem Einschlusse gefärbt werden, um die feinere Struktur des Knochens sichtbar zu machen. Verf. bestreicht zu diesem Zwecke die geschliffene Knochenfläche der Gelatine-Einbettungspräparate mit einer gesättigten alkoholischen Methylenblau- oder Gentianaviolett-Lösung. Nach dem Trocknen schleift er ein wenig mit einem feineren Schmirgelpapiere und Mattglase, bis der Farbstoff an der Knochenfläche kaum mehr sichtbar ist. Hierdurch wird wenigstens der größte Teil der Haversschen Kanäle gefärbt. In gelungenen Präparaten wird sogar ein Teil der Knochenlücken und der Haversschen Lamellen erkennbar.

Schiefferdecker (Bonn).

Regaud, C., et Mawas, J., Ergastoplasma et mitochondries dans les cellules dans la glande sous-maxillaire de l'homme (C. R. Soc. Biol. Paris t. LXVI, 1909, no. 11, p. 461—463).

Die Verff. beabsichtigten, in dem Protoplasma der Drüsenzellen vergleichend zu untersuchen: einmal die „Basalfäden" von Solger (1894, 1896), die später von Garnier und den Brüdern Bouin (1897) genau studiert und als „Ergastoplasma" bezeichnet worden sind, und anderseits die „Mitochondria" von Benda (1898). Bis dahin hatten die Autoren gewöhnlich angenommen, daß die verschiedenen hier eben aufgeführten Zellbestandteile untereinander identisch wären. Regaud hat 1908 zuerst behauptet, daß hier Verschiedenheiten vorhanden sind, nach Untersuchungen an den Hauptzellen des Magens des Hundes. Mitochondria und Ergastoplasma würden also scharf voneinander zu trennen sein. Um hier Klarheit zu schaffen, haben die Verff. in der vorliegenden Arbeit die Speicheldrüsen untersucht, und zwar speziell die Submaxillaris des Menschen, da diese schon von früheren Autoren zur Untersuchung benutzt worden war. Die Verff. haben vier verschiedene Untersuchungsmethoden angewendet: 1) Fixierung in einer der Mischungen von Bouin und Tellyesniczky, danach Färbung mit Hämalaun oder mit Eisenhämatoxylin. 2) Fixierung in Formol ohne Essigsäure mit gleichzeitiger oder darauffolgender Chromierung, dann wieder einmal Färbung mit Hämalaun, zweitens mit Eisenhämatoxylin. Abgesehen von den histologischen Befunden geben die Verff. an, daß das Kernchromatin und die Mitochondria, von denen man glaubte, daß sie sich ähnlich verhielten, sich in bezug auf die beiden Arten der Fixierungsflüssigkeiten und die beiden angewandten Farbstoffe geradezu entgegengesetzt verhalten; die Fixierung mit der essigsäurehaltigen Flüssigkeit zerstört die Mitochondria oder macht sie unfärbbar, während gerade das Ergastoplasma ebenso wie das Kernchromatin das uns gewohnte Aussehen behalten. Die Fixierung mit Formol ohne Essigsäure konserviert die Mitochondria, läßt aber das Ergastoplasma und das Chromatin in ungewohnter Weise erscheinen. Es geht hieraus hervor, daß das Kernchromatin und das Ergastoplasma gemeinsame Eigenschaften besitzen. *Schiefferdecker (Bonn).*

Schilling, V., Zur Morphologie, Biologie und Pathologie der Kupfferschen Sternzellen der menschlichen Leber (Virchows Arch. Bd. CXCVI, 1909, H. 1, p. 1—68 m. 1 Tfl. u. 3 Textfigg.).

Es wurden zu der vorliegenden Arbeit etwa 400 Sektionen benutzt. Nachdem zuerst jede Leber auf die Beschaffenheit der Sternzellen angesehen worden war, wurde später die Untersuchung auf Fälle beschränkt, die besondere Verhältnisse erwarten ließen. Zur Untersuchung wurden in allen ausführlich wiedergegebenen Fällen mehrere Stücke der ganz frischen Lebern kurz nach der Sektion von makroskropisch möglichst verschiedenen Stellen entnommen, sofort in 4prozentiger Formollösung und in Sublimat-Kochsalzlösung oder Alkohol fixiert und in steigendem Alkohol gehärtet. Daneben wurden auch Stücke in Müller-Formol (nach Orth) eingelegt oder in einem Osmiumgemische fixiert, wenn es auf besonders feine Fettpartikelchen in den Sternzellen ankam. Im allgemeinen waren die nach 24stündiger Formolhärtung mit dem Gefriermikrotome geschnittenen Leberpräparate zum Studium auch der feinsten Fettverhältnisse völlig ausreichend. Nach Vorfärbung mit Hämalaun und Färbung mit Sudan III wurden die Schnitte in Kalium aceticum eingelegt und mit Deckglaskitt eingerandet. Manche dieser Präparate sind noch jetzt nach einem halben Jahre völlig brauchbar. Wenn sich auch nach der Osmiummethode feinere und dauerhaftere Schnitte herstellen ließen, so schadete hier die Undurchsichtigkeit der größeren Fettansammlung und die Ähnlichkeit des feinen Fettes mit Pigmenten. Zum Studium der feineren Strukturverhältnisse wurden ferner von jedem Falle Schnitte mit Hämalaun oder Hämalaun-Eosin sowie für das Bindegewebe nach van Gieson angefertigt. Die Pigmente wurden in ungefärbten Schnitten untersucht oder in solchen, die mit Lithionkarmin gefärbt waren. Dabei wurde jedesmal die Eisenreaktion mit Ferrocyankalium und Salzsäure angestellt (nach Perl). Die klassische Methode der Sternzellenfärbung wurde wiederholt versucht, doch erwies sich das Material als nicht frisch genug. Es kam wiederholt zu eigentümlich braunvioletten Färbungen durch das Goldchlorid, doch fand die Eindichtung zu wirklichem Pigment in den Sternzellen nicht mehr statt. Da es sich um eine Funktion des lebensfrischen, eventuell sogar des überlebenden Protoplasmas handelt, kann man eine wirklich brauchbare Färbung mit der Kupfferschen Methode gewöhnlich nur an Tierlebern erhalten. So wurde bei den Tierversuchen des Verf. diese Methode mit gutem Erfolge neben den andern Darstellungsarten angewendet. Die Schnittdicke der in Paraffin eingebetteten Stücke lag zwischen 2 und 10 μ.

Schiefferdecker (Bonn).

Brandts, E., Über Einschlüsse im Kern der Leberzelle und ihre Beziehungen zur Pigmentbildung a) beim Hunde, b) beim Menschen (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XLV, 1909, H. 3, p. 457—475 m. 4 Tfln.).

Es wurden Hunde untersucht. Aus den sämtlichen Lappen der Leber wurden kleinere und größere Stücke in verschiedenen Lösungen gehärtet: Formol; Sublimat 1:20; Sublimat-Pikrinsäure, gesättigte wässerige Lösung zu gleichen Teilen; Alkohol von 70, 80 und 99 Prozent. Einbettung teils in Paraffin, teils in Celloïdin. Von jeder Leber wurden 40 bis 50 Blöcke geschnitten. Die 2 bis 8 μ dicken oberflächlichen wie tiefen Schnitten wurden hauptsächlich gefärbt mit: Hämatoxylin-Eosin, Weigert-van Gieson, Weigert-Eisenhämatoxylin, Ehrlichs Triacid u. a. Außerdem wurden noch zahlreiche Gefrierschnitte von in Formol gehärteten Stücken, 5 bis 10 μ dick, besonders wegen der Fettfärbung angefertigt. *Schiefferdecker (Bonn).*

Russakoff, A., Über die Gitterfasern der Lunge unter normalen und pathologischen Verhältnissen. Zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der feinsten Stützsubstanz einiger Parenchyme (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XLV, 1909, H. 3, p. 476—506).

Fixiert wurde in 10prozentiger Formollösung 2 bis 3 Tage lang. Einbettung in Paraffin. Schnittdicke 5 bis 20 μ. Die von Maresch angegebene Modifikation der Bielschowskyschen Methode gibt auch in der Lunge gute Resultate, doch ist es zweckmäßiger, die Dauer des Goldbades auf 5 Minuten abzukürzen. Zum Vergleiche wurden benutzt die Färbung mit Eisenhämatoxylin (Weigert)-van Gieson, Weigerts Fuchselin, Hämatoxylin-Eosin. *Schiefferdecker (Bonn).*

Schröder, R., Die Drüsenepithelveränderungen der Uterusschleimhaut im Intervall und Prämenstruum (Arch. f. Gynäkol. Bd. LXXXVIII, 1909, H. 1, p. 1—28 m. 2 Tfln.).

Die Schleimhautstücke kamen direkt von der Curette in physiologische sterile Kochsalzlösung und wurden dann möglichst bald, gewöhnlich sofort, in die Fixierungsflüssigkeit gebracht, als solche wurde fast für alle Fälle Flemmingsche Lösung verwendet, nach dem folgenden Rezepte:

Chromsäure, einprozentige Lösunng . . . . . 750·0
Osmiumsäure, 2prozentige Lösung . . . . . 200·0
Eisessig . . . . 50·0

Zur Fixierung der Kerne, besonders der Kernteilungsfiguren, und gleichzeitig zur Darstellung des Fettes. Nach mindestens 24 Stunden 24stündiges Wässern und Nachhärtung in steigendem Alkohol. Daneben wurden als weitere Fixierungsmittel sowohl Zenkersche Flüssigkeit nach der folgenden Formel:

Sublimat . . . . 150·0
Kalium bichromicum . . . . 75·0
Natrium sulfuricum . . . . 30·0
Aq. dest. . . . . 3000·0

wie auch absoluter Alkohol oder Formol benutzt. Verf. tat das aus dem Grunde, da in Flemming gehärtete Präparate die Hämatoxylinfärbung nicht annehmen, diese Färbung aber mit der Eosingegenfärbung nicht entbehrt werden konnte. Alkohol wurde benutzt, um auch die Plasmazellenfrage mit zu studieren. Die Alkoholhärtung wirkt nach Verf. starkschrumpfend und deshalb ist die Fixierung in Zenkerscher Flüssigkeit vorzuziehen. Einbettung stets in Paraffin. Gefärbt wurde mit folgenden Stoffen: 1) Safranin: Man löst Safranin in absolutem Alkohol bis zur Sättigung und verdünnt vor dem Gebrauch mit der gleichen Menge destillierten Wassers. Einwirkungsdauer 24 Stunden, dann Abspülen in Wasser und Differenzierung in Salzsäurealkohol. Voraussetzung ist Fixierung in Flemmingscher Flüssigkeit. 2) Hämatoxylin nach Delafield: Nach Flemming unbrauchbar; die Präparate wurden in der konzentrierten Lösung überfärbt, dann lange gewässert und in Salzsäurealkohol differenziert. Sehr distinkte Kernfärbung und daneben in bestimmten Stücken kleine Körnchen des Inhaltes blaulila gefärbt, wohl Schleim. 3) Eosin und die Lösung von van Gieson zur Gegenfärbung für das Protoplasma. 4) Das Dreifarben-Gemisch von Biondi-Heidenhain wurde bald aufgegeben, da es nicht mehr leistete als Hämatoxylin-Eosin. 5) Mucikarmin nach P. Mayer zur Färbung des Schleimes sowohl nach Fixierung in Zenker wie in Alkohol, indem man die Schnitte vom Wasser aus für 5 bis 10 Minuten in die Farblösung bringt, in Wasser abspült und mit 95prozentigem Alkohol differenziert, besonders mit der Hämatoxylinkernfärbung gibt es sehr klare Bilder vom Schleime. Zu bemerken ist, daß der sonst leuchtend rot gefärbte Schleim in späteren Stadien der Schwellung, wenn auch das Hämatoxylin den Schleim färbt, als Resultat beider Farben

einen blaurötlichen Ton zeigt, der aber stets mit großer Deutlichkeit von den übrigen Farbtönen zu unterscheiden ist. Das von Hitschmann und Adler verwendete Muchhämatin hebt sich bei Hämatoxylinfärbung nicht genügend ab. Von jedem Falle wurden, wenn es möglich war, ein Flemming- und ein Zenker-Block oder ein Flemming- und ein Alkohol-Block oder alle drei Blöcke hergestellt.

Schiefferdecker (Bonn).

Lhermitte, J., et Guccione, A., Nouvelle méthode de coloration pour l'étude de la névroglie [cellules et fibrilles] (La Semaine médicale Année XXIX, 1909, no. 18, p. 205—207 av. 7 figg.).

Die Verff. heben hervor, daß alle bisher mitgeteilten Methoden für die Färbung der Glia in der Praxis noch nicht das leisten, was eigentlich wünschenswert sei. Sie beschreiben eine von ihnen gefundene Methode, nach der sich die Neurogliazellen und -Fibrillen sowohl im normalen, wie im pathologischen Zustande absolut sicher färben lassen sollen. Die Methode besteht aus zwei Prozessen, für beide ist es gleich, wie lange nach dem Tode die Sektion vorgenommen wird. Das Rückenmark kommt für 2 bis 3 Tage in eine 10prozentige Formollösung, dann hat es eine hinreichende Konsistenz erhalten. Vom Gehirne entnimmt man die nötigen Stücke und legt sie für dieselbe Zeit in Formol. Die Schnitte müssen mit einem Gefriermikrotome ausgeführt werden. Sie kommen in destilliertes Wasser, dann direkt in eine kalt gesättigte wässerige Lösung von Sublimat. Nach 2 Stunden werden sie übertragen in die Chrom-Osmium-Essigsäure-Mischung von folgender Zusammensetzung: Osmiumsäure, einprozentige Lösung, 3 g; Chromsäure, einprozentige Lösung, 35 g; Essigsäure, 2prozentige Lösung, 7 g; destilliertes Wasser 55 g. In dieser Mischung müssen die Schnitte wenigstens 2 Tage verbleiben. Dann kommen sie in Wasser und werden gefärbt. Die Färbung muß ausgeführt werden in der Hitze und auf dem Objektträger, auf dem der Schnitt montiert werden soll. Man bringt einige Tropfen einer einprozentigen Lösung von Viktoriablau auf den Schnitt (ältere Lösungen färben besser als frische) und erhitzt auf der Bunsenflamme. Sobald die ersten Dämpfe aufsteigen, muß man aufhören und abkühlen lassen. Man soll dies etwa 10mal wiederholen. Dann gießt man den überflüssigen Farbstoff ab und bringt auf den Schnitt einige Tropfen der Gramschen Flüssigkeit, die man eine Minute einwirken läßt, dann Entwässerung des Schnittes durch schnelles Ab-

waschen in absolutem Alkohol und endlich Entfärbung in einer Mischung von gleichen Teilen von Anilinöl und Xylol. Einschluß in Kanadabalsam, der in Xylol gelöst ist. Die Neuroglia ist intensiv blau gefärbt, während die Nervenfasern und Nervenzellen gänzlich ungefärbt sind. Das Bindegewebe bleibt ebenfalls durchsichtig oder ist leicht hellgrün gefärbt. Die Markscheiden sind durch die Chromsäure schön hellgelb gefärbt. Auf dem Querschnitte eines normalen Rückenmarkes zeigen sich die Neurogliaelemente weit zahlreicher in der grauen Substanz, so daß diese im allgemeinen blau erscheint, im Gegensatze zu der gelben Färbung der Stränge. Die Wurzelzellen erscheinen umgeben von einem sehr reichen Netze von Fibrillen, die sehr fein sind und sich nach allen Richtungen kreuzen. Die Kerne, welche zwischen diesen liegen, hängen mit diesen Fibrillen in keiner Weise zusammen, sondern berühren sie nur. Mit dieser Methode ließ es sich noch nicht nachweisen, ob das Protoplasma der Zellen mit den Fibrillen in Verbindung steht. Um dieses zu sehen, ist die folgende Färbung nötig: Die Stücke werden zuerst gehärtet, wie oben angegeben, und sorgfältig ausgewaschen, bevor sie in Frostschnitte zerlegt werden. Nach der Fixierung in der Chrom-Osmium-Essigsäure-Mischung kommen die Schnitte in die Gramsche Flüssigkeit, dann Auswaschen mit destilliertem Wasser. Zur Färbung kommen die Schnitte 2 Tage lang in Phosphor-Wolframsäure-Hämatoxylin. Es ist dies eine modifizierte Farblösung nach Mallory, die folgendermaßen hergestellt wird: Man löst in der Hitze 0·7 g Hämatoxylin in ein wenig Wasser, setzt dann kaltes destilliertes Wasser zu bis zu 80 cc. Nach Abkühlung gießt man zu: 20 g einer 10prozentigen Lösung der Phosphor-Wolframsäure und 0·2 g Sauerstoffsuperoxydlösung (zu 12 Volumenteilen). Diese Farblösung kann gleich nach der Herstellung verwendet werden, sie braucht nicht erst zu reifen. Dann Auswaschen in destilliertem Wasser, schnelle Entfärbung in absolutem Alkohol. Die Schnitte werden aufgehoben in neutralem Kanadabalsam. *Schiefferdecker (Bonn).*

Lederer, R., Veränderungen an den Stäbchen der Froschnetzhaut unter Einwirkung von Licht und Dunkelheit (Zentralbl. f. Physiol. Bd. XXII, 1908, No. 24, p. 762—764 m. 6 Figg.).

Die Lichtfrösche (Rana esculenta) wurden $1^1/_2$ Stunden lang dem direkten Sonnenlichte ausgesetzt, nachdem sie vorher im Dunkeln gewesen waren. Dann wurden die Frösche geköpft, die Bulbi enukleiert,

geöffnet, 24 Stunden lang in einprozentiger Osmiumsäure fixiert, ausgewaschen, und die Retinastückchen zerzupft. Die Dunkelfrösche wurden 2 bis 3 Stunden lang in der Dunkelkammer gehalten, dann ebenso behandelt wie die Lichtfrösche. Beide Arten von Präparaten blieben (nach Exner und Januschke) auch nach dem Einlegen in die Fixierungsflüssigkeit noch eine Zeitlang unter denselbeu Beleuchtungsverhältnissen wie vorher. Um gefärbte Schnitte anzufertigen, kamen die Bulbi teils uneröffnet, teils zerschnitten in 50prozentigen Alkohol, dann in steigenden Alkohol, dann Celloïdineinbettung. Um das Pigment, in dem die Stäbchen, wenigstens im Hellauge, gänzlich verborgen liegen, zu entfernen, wurden die Schnitte nach Exner und Januschke erst in Kaliumpermanganat oxydiert, dann in naszierender, schwefliger Säure, welche durch Einwirkung von einer einprozentigen Oxalsäurelösung auf eine einprozentige Lösung von Natriumsulfit zu gleichen Teilen erhalten wurde, depigmentiert, dann mit Hämalaun gefärbt. *Schiefferdecker (Bonn).*

Schmidt, W. J., Beiträge zur Kenntnis der Parietalorgane der Saurier (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCII, 1909, p. 359—426 m. 23 Figg. u. 1 Tfl.).

Zur Untersuchung gelangte größtenteils in Alkohol konserviertes Museumsmaterial, das wohl für das Studium der morphologischen Verhältnisse ausreichend gut erhalten, für feinere histologische Untersuchungen aber natürlich weniger geeignet war. Für letzteren Zweck wurde deshalb wenigstens einiges Material von Lacerta und Chalcides mit Sublimat, Sublimat-Eisessig, Sublimat-Alkohol und Chrom-Osmium-Essigsäure fixiert. Zum Entkalken der Köpfe erwachsener Tiere kam eine Mischung von 5 bis 10 Teilen Salpetersäure und 100 Teilen 95prozentiger Alkohol zur Verwendung. Bei mehrfachem Wechsel der Flüssigkeit entkalkt diese Flüssigkeit kleinere Köpfe schonend in einigen Tagen. Nach dem Entkalken kamen die Objekte in 95prozentigem Alkohol, dem präzipitiertes Calciumcarbonat zugesetzt war, um die Säure der Entkalkungsflüssigkeit aus den Geweben zu entfernen. Weiter wurde in absolutem Alkohol entwässert und durch Benzol in Paraffin eingebettet. Die größtenteils in sagittaler Richtung angefertigten Schnitte wurden meist mit Delafields Hämatoxylin gefärbt, gelegentlich aber auch mit Thionin, Eisenhämatoxylin, Säurefuchsin, Eosin oder Orange G. Die Golgische Chromsilbermethode, die an frischem Material ebenfalls versucht wurde, ließ vollständig im Stich. *E. Schoebel (Neapel).*

Ehrlich, P., Beiträge zur experimentellen Pathologie und Chemotheapie. Leipzig (Akad. Verlagsges.) 1909. 247 pp.

Ehrlich faßt in diesem Bande die Ergebnisse seiner letztjährigen Studien über spezifische Therapie (drei Vorträge), über den jetzigen Stand der Carcinomfrage (fünf Aufsätze), über moderne Chemotherapie und über Partialfunktionen der Zelle zusammen. Zu einem eingehenderen Referate an dieser Stelle ist das Buch nicht geeignet.

O. Levy (Leipzig).

C. Mikroorganismen.

Greeff, Die Erreger des Trachoms (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. XXXV, 1909, No. 12, p. 517—519 m. 8 Figg.).

Verf. beschreibt eine Methode, um die Erreger des Trachoms, regelmäßige, rundliche Gebilde, die erheblich kleiner sind als die kleinsten bekannten Kokken, deutlich darzustellen. Sie sind von einem deutlichen hellen Hofe umgeben und sind nicht drehrund, sondern etwas oval, wie Bakterien mit abgerundeten Ecken. Wo sie vereinzelt vorkommen, legen sie sich aneinander, wie Doppelkokken. In späteren Stadien liegen sie in größeren Massen beieinander, meist intrazellulär, in der sogenannten „Haufenform". Verf. fand die Gebilde im Follikelinhalt sowohl frei wie intrazellulär, in den Epithelien und frei in dem fadenziehenden Sekrete. Verf. hebt hervor, daß diese Gebilde nicht gerade leicht darstellbar sind, es gehört längere Beschäftigung und einige Übung dazu. Man muß frische, unbehandelte Fälle untersuchen. Die Körperchen verschwinden nach einigen Tagen der Behandlung mit dem Kupferstifte aus den Ausstrichpräparaten, während sie in der Tiefe augenscheinlich noch vorhanden sind. Am leichtesten sind sie in den von der Oberfläche der erkrankten Schleimhaut abgeschabten Epithelzellen zu sehen. Methode: Das Sekret des Konjunktivalsackes wird in gewöhnlicher Weise mit einer Platinöse entnommen und in möglichst dünner Schicht auf Deckgläschen ausgestrichen. Das Konjunktivalepithel wird so gewonnen, daß man entweder mit dem Deckglasrande das Epithel oberflächlich abstreift und dann, wie bei einem Blutpräparate, auf Deckgläser verstreicht, oder daß man es mit einem besonders konstruierten, rechtwinklig gebogenen Platiniridium-Instrumente entnimmt und es dann

in möglichst dünner Schicht auf Deckgläser verreibt. Die so gewonnenen Präparate läßt man lufttrocken werden und fixiert sie dann etwa 20 bis 30 Minuten lang in absolutem Alkohol. Darauf kommen die Präparate für 6 bis 9 Stunden in die jedesmal frisch zu bereitende Farblösung, in der die Deckgläschen mit der Schichtseite auf der verdeckten Flüssigkeit schwimmen. Die Farblösung besteht aus: 1) Giemsa-Eosinlösung (2·5 cc einprozentiger französischer Eosinlösung auf 500 cc destillierten Wassers) 12 Teile. 2) Azur I (1 : 1000) 3 Teile. 3) Azur II (0·8 : 1000·0) 3 Teile. Diese drei Flüssigkeiten müssen gründlich gemischt werden. Vorteilhaft ist es, die Lösungen vorher auf 37 Grad anzuwärmen. Die 6 bis 9 Stunden lang bei 37 Grad gefärbten Präparate werden mit destilliertem Wasser abgespült, mit Fließpapier gut abgetrocknet und dann, ohne sie vorher über der Flamme zu trocknen, in Zedernholzöl eingeschlossen. Neuerdings hat Verf. die Färbung bei 56 Grad ausgeführt und hierbei schon nach 3 Stunden gut gefärbte Präparate erhalten. Die Schnellfärbung mit Glyzerinwasser und Giemsa-Lösung bei Siedetemperatur, die zur Darstellung der Spirochaete pallida erfolgreich angewendet wird, eignet sich zur Färbung der Trachomkörperchen nicht. In letzter Zeit hat Verf. nach Hartmann und Leber jun. die sogenannte feuchte Fixierung angewendet, indem die in der oben beschriebenen Weise beschickten Deckgläschen in noch feuchtem Zustande in Sublimatalkohol für eine bis 2 Minuten kommen und dann in 50prozentigem Alkohol nachfixiert werden. Färbung dann nach Giemsa oder Heidenhain. Auch dies ergab gute Resultate. Auch im Schnitte lassen sich die Trachomkörperchen sehr gut darstellen: Härtung einer Gewebsfalte der Konjunktiva in Alkohol und Einbettung in Paraffin. Nach Auflösung des Paraffins Färbung nach Giemsa (4 bis 5 Stunden), Auswaschen in Alkohol (6 bis 8 Minuten), Einschluß in Zedernholzöl.

Schiefferdecker (*Bonn*).

Calmette, Massol et **Breton,** Milieux de culture pour le bacille tuberculeux (Compt. Rend. Soc. Biol. vol. LXVII, 1909, p. 580).

Verff. gebrauchten folgende mineralische Nährlösung:

CO_3Na_2	1·0	g
SO_4Fe	0·040	„
SO_4Mg	0·050	„
PO_4K_2H	1·0	„
NaCl	8·5	„ auf 1000 Teile Wasser.

Als Stickstoffquelle wird Asparagin, Succinimid (2·5 g auf ein Liter) genommen; außerdem kann noch Glukose, Glyzerin oder Rohrzucker als Kohlenwasserstoff zugefügt werden. Asparagin gibt gute Resultate bei Abwesenheit von CO_3Na_2. Tuberkulin von solchen Kulturen gewonnen zeigte gute Resultate. Morphologisch unterscheiden sich Bazillen von solchen Kulturen nicht von gewöhnlichen Bouillonbazillen. Nur im Falle, wo Pepton als Stickstoffquelle gebraucht wird, sind die Bazillen länglich oder streptokokkenähnlich.

G. Seliber (Paris).

Guillemard, Diversité des résistences des Bactéries à la pression osmotique (Compt. Rend. Soc. Biol. vol. LXVII, 1909, p. 538).

Verf. gebraucht die Fähigkeit dem osmotischen Drucke verschiedener Größe zu widerstehen als ein Merkmal zur Unterscheidung von Bakterienarten. Er fügt dazu zur Bouillon NaCl und $(NH_4)_2SO_4$ in verschiedener Menge und findet die Grenzwerte für verschiedene Bakterien. *G. Seliber (Paris).*

Jacobson, La recherche du bacille de Koch par la méthode de l'antiformine-ligroïne (Compt. Rend. Soc. Biol. vol. LXVII, 1909, p. 507).

Verf. gebraucht folgende verbesserte von Uhlenhuth vorgeschlagene Antiforminmethode: Der Speichelauswurf wird ein wenig mit destilliertem Wasser verdünnt, die großen Klumpen werden, so weit es möglich ist, fein verteilt. Man bringt es in ein Zylinderglas (gut geschlossen) und fügt 5 Teile 40prozentiges Antiformin (besteht aus Kaliumhypochlorit und Ätzkalium) auf einen Teil Speichelauswurf hinzu. Dann läßt man 2 bis 3 Stunden stehen, indem man oft schüttelt. Da fügt man Ligroïn (eine Petroläthersubstanz) zu, so daß es eine Schicht von 2 bis 3 mm über das Antiformin bildet. Man schüttelt, um beide Flüssigkeiten zu vermischen. Man läßt dann eine halbe Stunde stehen, besser im Thermostaten. Das Ligroïn erscheint dann wieder auf der Oberfläche, unter der Ligroïnschicht sieht man eine dünne graue Schicht, die die Bazillen des Speichelauswurfes enthält. Die Bazillen können dann nach den üblichen Methoden gefärbt werden.

Es wurde nach diesem Verfahren im Speichelauswurf, der nach der üblichen mikroskopischen Methode nur wenig Bazillen zeigte, eine große Menge von Bazillen konstatiert. *G. Seliber (Paris).*

Berger, K., Vergleichende färberische Nachprüfung der von Ziehl-Neelsen, Much und Gasis empfohlenen Färbemethoden für Tuberkelbazillen und einige Versuche über Umfärbung bereits gefärbter Bazillen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Bd. LIII, H. 2, p. 174).

Nach einer einleitenden Angabe über die Chemie des Tuberkelbazillus und seiner Hülle sowie über die Morphologie und Struktur und die verschiedenen bisher angewendeten Färbemethoden wendet sich Verf. zur Schilderung der eigenen Versuche, welche eine Vergleichung der Methoden von Ziehl-Neelsen, Much und Gasis zum Gegenstand haben. Die Färbung nach Ziehl-Neelsen zeichnet sich durch ihre Einfachheit und die Klarheit der rotgefärbten Bazillen aus; ihr Nachteil beruht darin, daß die granuläre Form des Tuberkelbazillus nicht darstellbar ist. Die von Much modifizierte Gram-Methode gibt diese zwar wieder, ist aber umständlicher und kann bei Mischinfektionen zu Trugschlüssen führen. Die Methode nach Gasis eignet sich besonders zur Darstellung der Bazillenstrukturen, ist aber viel komplizierter als die Ziehl-Neelsensche Methode. Ein Umfärben der nach Ziehl-Neelsen gefärbten Präparate nach der Gram-Methode sowie umgekehrt gelang Verf. in den meisten Fällen.

W. Reidemeister (Berlin).

Yamamoto, J., Über den Lokomotionsapparat der Protistenzellen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Bd. LIII, H. 1, p. 38).

Verf. bedient sich zur Darstellung von Cilien und Flagellen folgender Methode: Vermischen des fraglichen Materials auf dem Objektträger in einer Öse klaren Hühnereiweiß, trocknen lassen, dreimal durch die Flamme ziehen; darauf Behandeln mit 5prozentiger Silbernitratlösung im Brutschrank oder Paraffinofen während 24 Stunden. Reduktion in einer Lösung von 2,0 g Pyrogallussäure, 1,0 g Tannin in 100 cc destillierten Wassers 10 Minuten lang. Der auf dem Objektträger entstehende schwarze Niederschlag ist sorgfältig mittels eines feuchten Filtrierpapierstreifens durch Überstreichen zu entfernen. Endlich Waschen mit Wasser, Trocknen und Einschließen in Kanadabalsam. Verf. untersuchte neben anderen Trypanosomen, Spirochäten, Spermatazoën, Vibrionen.

W. Reidemeister (Berlin).

Gins, H., Zur Technik und Verwendbarkeit des Burrischen Tuscheverfahrens (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Bd. LII, H. 5, p. 620).

Verf. empfiehlt das Burrische Tuscheverfahren zur Darstellung von Geißeln, von Spirillen und Spirochäten, zum Studium und zur Zählung von Blutplättchen, zur Zählung von Bakterienaufschwemmungen nach Wright sowie zur Herstellung von Projektionspräparaten. Der Ausstrich erfolgt mit einem Objektträger, dessen eine Kante im Winkel von etwa 45° abgeschliffen ist. Je nach dem Winkel, welchen der so verbreitete Ausstrich mit dem Objektträger bildet, wird man dickere oder dünnere Ausstriche erhalten. Als Tuschematerial verwendete Verf. dasjenige von Grübler und Günther Wagner nach Verdünnung auf das doppelte Volumen. Wichtig ist es aber, die Tusche 14 Tage sedimentieren zu lassen, um die Bakterien und Staubpartikel zu entfernen; auch durch längeres Zentrifugieren bei 3000 bis 5000 Umdrehungen werden diese völlig entfernt. Einer erneuten Verunreinigung beugt man durch Zusatz von Formaldehyd vor; für Blutpräparate darf jedoch nur formolfreie Tusche verwandt werden. Während sich durch die Tuschemethode die Spirochaete pallida und Recurrens z. B. gut darstellen ließen, hatten die Versuche, Bakteriengeißeln sichtbar zu machen, ein weniger befriedigendes Resultat. Sowohl die Leukocyten wie Erythrocyten und die Blutplättchen treten in Präparaten scharf hervor, so daß sich die Methode auch zur Zählung letzterer in Blutpräparaten eignet. Die Zahl der Blutplättchen fand Verf. größer als bisher angegeben, nämlich zu 30000 bis 1000000 in 1 cbmm Blut. Eine Nachfärbung der Präparate mit Giemsa-Lösung ist möglich und sehr zu empfehlen. Acht beigegebene Photogramme von Spirochäten, Spirillen und Blutplättchen geben die Einzelheiten deutlich wieder. *W. Reidemeister (Berlin).*

Megele, Erfahrungen mit dem neuen Malachitgrün-Agar Padlewskis zum Nachweis von Bazillen der Typhusgruppe (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Bd. LII, H. 5, p. 616).

Verf. empfiehlt auf Grund seiner Versuche den Padlewskischen Agar (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Bd. XLVIII, H. 4), der sich nächst seiner einfachen Herstellungsweise und seinen geringen Beschaffungskosten dadurch auszeichnet, daß sich im Gegensatz zu den Drigalski-Conradischen Nährböden die Säure- und Alkalibildner durch den Anblick der Kolonien — nicht ihrer Umgebung —

unterscheiden lassen. Die Kolonien der Säurebildner sind deutlich grün, die der Alkalibildner gelb gefärbt. Von 39 positiven Stühlen ließen sich 28 mittels des Drigalskischens Verfahrens, 29 durch das Verfahren von Padlewski und 16 durch die Malachitgrünplatte als Typhusbazillen enthaltend erkennen. *W. Reidemeister (Berlin).*

Kathe u. Blasius, Vergleichende Untersuchungen über die Leistungsfähigkeit älterer und neuerer Typhusnährböden (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Bd. LII, H. 5, p. 586).

Der Nachweis von Typhusbazillen konnte bei 31 positivem Material in 11 Fällen durch den Malachitgrünnährboden Drigalski, 20mal durch den Drigalski-Conradischen Nährboden, 24mal durch Endo-, 3mal durch Kindborg-Nährboden, 24mal auf Conradi- und 25mal auf Padlewski-Agar erbracht werden. „Einen für jeden Stuhl, jeden Urin günstigen elektiven Nährboden besitzen wir nicht.“ Verff. empfehlen deshalb mehrere Nährbodenarten nebeneinander zu verwenden, und zwar mit folgender Kombination:

1) Padlewski-Agar, 2) Endo-Agar, 3) Conradi-Agar, eventuell mit Abschwemmung auf Endo, 4) Malachitgrünagar mit Abschwemmung auf Endo. *W. Reidemeister (Berlin).*

Koch, Th., Über Sputumuntersuchungen (Zeitschr. f. angew. Mikrosk. u. klin. Chemie Bd. XV, H. 4, p. 85).

Verf. gibt in seiner Arbeit eine Zusammenstellung einiger Methoden der Blutuntersuchungen. Ein besonderes Gewicht legt er auf den Nachweis der granulären Form des Tuberkulosevirus, die nach Much virulent ist und sich durch die Ziehlsche Methode nicht färben läßt. Der Nachweis dieser nicht nach Ziehl färbbaren Form von Tuberkelbazillen erfolgt nach Much-Schottmüller in der folgenden Weise:

„Möglichst gleichmäßiger, dünner Ausstrich von Eiter oder Sputum auf Objektträger; Fixieren des Präparates kurz in Formolalkohol und Abtrocknen mit Filtrierpapier; 1- bis 2mal 24stündige Färbung bei Zimmertemperatur in einer alkoholischen Karbol-Methylviolettlösung B. N. (10 cc alkoholische Methylviolettlösung in 100 cc 2prozentiger Karbolwasserlösung).

1) Sorgfältiges Filtrieren des Gemisches. Aufrechtes Einstellen der Objektträger in weite Reagenzgläser, um möglichst Niederschläge zu vermeiden.

2) Jodieren mit LUGOLscher Lösung 10 bis 15 Minuten.

3) 5 Proz. Salpetersäure 1 Minute.

4) 3 Proz. Salzsäure 10 Sekunden.

5) Aceton-Alkohol (āā). Die Entfärbung geschieht so lange, bis kein Farbstoff mehr abfließt. Wiederholte Kontrolle des Präparates unter dem Mikroskop.

6) Abtrocknen mit Filtrierpapier.

7) Nachfärbung mit 10prozentiger Safraninlösung 5 bis 10 Sekunden.

8) Ausspülen mit Wasser.

9) Abtrocknen mit Fließpapier.

10) Kurzes Trocknen ohne Flamme.

11) Besichtigung des Präparates mit der Ölimmersion.“

Die modifizierte HERMANsche Granulafärbung ist folgende: „Ausstrichpräparate nach der Lufttrocknung 3mal durch die Flamme ziehen. Vorfärbung mit sorgfältig filtriertem, salzsaurem Karmin (Z. MAYER) 10 Minuten, sodann Differenzierung mit einprozentigem Salzsäurealkohol (1 cc reine Salzsäure auf 100 cc 70prozentigen Alkohol), und zwar solange, bis die Kerne deutlich sichtbar werden. Abspülen mit Wasser, Färben über der Flamme bis zur Dampfbildung und Erkalten lassen, Übergießen mit einer Mischung von 3 Teilen einprozentiger Ammoniumkarbonatlösung in destilliertem Wasser und 1 Teil 3prozentiger Kristallviolettlösung in 96prozentigen Alkohol.“ Entfärben in 10prozentiger Salpetersäure und mittels 96prozentigen Alkohols bis der ursprüngliche Karminton wiedergekehrt ist. Abwaschen mit destilliertem Wasser, an der Luft trocknen, mit Ölimmersion betrachten.

Pneumokokken lassen sich durch Färben mit 2prozentigem Gentianaviolett und kurzer Differenzierung in 2prozentiger Essigsäure darstellen, die Influenzabazillen durch längere Einwirkung verdünnter Karbolfuchsinlösung auf die fixierten Sputumapparate. Typhus und Aktinomyces sind nach den üblichen bakteriologischen Methoden zu züchten und zu identifizieren. Den Schluß der Arbeit bildet eine Zusammenstellung der Homogenisierungsmethoden.

W. Reidemeister (Berlin).

Laubenheimer, K., Das DIEUDONNÉsche Blutalkaliagar als Elektivnährboden für Choleravibrionen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. LII, 1909, No. 2, p. 294—298).

Dieudonnés Blutalkaliagar stellt für Choleravibrionen und für choleraähnliche Vibrionen einen ausgezeichneten Elektivnährboden dar. Die Vibrionen werden auf Blutalkaliagar oft stark polymorph und zeigen verminderte Färbbarkeit. *Küster (Kiel).*

Hachla, J., u. Holobut, Th., Beitrag zur Frage elektiver Nährböden für Choleravibrionen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. LII, 1909, No. 2, p. 299—304).

Noch besser als mit dem von Dieudonné empfohlenen Rinderblut sind die Choleranährböden mit Schweine- oder Pferdeblut anzufertigen.

Dieudonné empfahl 1 : 1 als Verhältnis des Blutes zur Normalkalilauge; gute Resultate gibt noch eine Mischung von 1 : 0·75; das Verhältnis 1 : 0·5 ist nicht mehr geeignet. *Küster (Kiel).*

Esch, P., Ein Beitrag zur Züchtung des Meningococcus (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. LII, 1909, H. 1, p. 150—154).

Als besonders geeigneten Nährboden für Meningokokken empfiehlt Verf. folgende Mischung: 60 cc Peptonagar (ein Prozent Pepton Witte) werden nach Abkühlung auf etwa 50° C mit 20 cc sterilem, defibriniertem Hammelblut, 10 cc Ascitesflüssigkeit und 1·0 g Maltose (in 3 cc Bouillon gelöst) gemischt. *Küster (Kiel).*

Rau, S., Vergleichende Untersuchungen über einige neuere Methoden von Tuberkelbazillen im Sputum (Hyg. Rundschau Bd. XIX, No. 23, p. 1333).

Verf. hat die folgenden, zum Nachweis von Tuberkelbazillen dienenden Methoden: 1) Färbung mit Karbolfuchsin, Gegenfärbung mit Methylenblau, 2) die Ligroinmethode Lange und Nitsche, 3) die Antiforminmethode, 4) die kombinierte Antiforminmethode Haserodt einer vergleichenden Prüfung unterzogen. Von 67 Sputen war bei 49 durch die einfache Färbemethode der Nachweis von Tuberkelbazillen möglich; bei Anwendung der Antiforminmethode erschienen die Tuberkelbazillen in etwa 2- bis 20mal größerer Anzahl im Gesichtsfelde. Ferner war es möglich von den 18 Fällen, welche nach der üblichen Färbemethode als negativ zu bezeichnen waren, noch 5 als positiv zu erkennen; die Zahl der hierbei gefundenen Tuberkelbazillen schwankte zwischen 5 und 20. Auf Grund seiner Untersuchungen hält Verf. die Antiforminmethode den anderen für bedeutend

überlegen. Über die kombinierte Antiformin-Ligroinmethode spricht Verf. eine endgültige Ansicht nicht aus, obwohl es ihm scheint, daß dieses Verfahren der Antiforminmethode nachsteht.

W. Reidemeister (Berlin).

Padlewski, L., Bemerkungen zu der Arbeit von Dr. F. Grimm „Über den praktischen Wert einiger neuer Typhusnährböden" in No. 14 Hyg. Rundschau 1909, p. 13 (Hyg. Rundschau Bd. XIX, No. 24, p. 1388).

Verf. stellt einige nicht genau wiedergegebene Angaben des Autors über die Zusammensetzung des Nährbodens richtig und erweitert seine frühere Vorschrift zur Herstellung desselben.

W. Reidemeister (Berlin).

Schumacher, Vergleichender Typhusnachweis mittels des kombinierten Endo-Malachitplattenverfahrens und des Conradischen Brillantgrünpikrinsäureagars (Klin. Jahrbuch Bd. XXI, H. 2, p. 209).

Die angestellten Versuche erstrecken sich auf 500 Fälle; 61 von diesen konnten als positiv erkannt werden. Aus den Untersuchungen ergibt es sich, daß die Brillantgrünplatte mehr leistet als die Endo- oder die Malachitgrünplatte, daß es ferner Fälle gibt, bei denen der Typhusnachweis sich nur mit Hilfe der Brillantgrünplatte erbringen läßt, während anderseits die letztere im Gegensatz von Endo- und Malachitgrünplatte versagt; dies kann erfolgen, wenn die Gruppe der Alkaligenesarten vorherrscht. Dementsprechend empfiehlt Verf. zum exakten Nachweis von Typhus das Dreiplattenverfahren. Ausstrich auf Brillantgrün, Endo- und Malachitgrünplatte.

W. Reidemeister (Berlin).

Sachs-Müke, Vergleichende Untersuchungen über die Typhusbazillenzüchtung aus kleinsten Blutgerinnseln vermittelst der Gallenanreicherung und des direkten Plattenausstriches (Klin. Jahrbuch Bd. XXI, H. 2, p. 233).

„Für die Praxis der Untersuchung muß daher gegenwärtig nur die Gallenkultur als die geeignetste Untersuchungsmethode bezeichnet werden." *W. Reidemeister (Berlin).*

D. Botanisches.

Burgeff, H., Die Wurzelpilze der Orchideen, ihre Kultur und ihr Leben in der Pflanze. Mit 3 Tfln. u. 38 Abbild. im Text. IV und 220 pp. Jena (G. Fischer) 1909.

Um von den in Orchideenwurzeln lebenden Pilzen sterile Proben zu erhalten, verfuhr Verf. folgendermaßen.

„In einer ausgezogenen und am kapillaren Ende abgeschnittenen Glasröhre befindet sich ein Glasfaden (zugeschmolzene Kapillare, wie sie beim Ausziehen der Glasröhre entsteht), der sich, durch Watte am Herausfallen verhindert, in der Röhre verschieben läßt, und es ermöglicht, einen an der Spitze derselben befindlichen Körper hinauszubefördern. Die Weite der Kapillare ist der Dicke der auszustechenden Wurzel entsprechend zu wählen. Von den beschriebenen Röhren werden eine größere Anzahl präpariert, in Papier gewickelt und bei 160^0 trocken sterilisiert. Mehrere zentimeterlange Stücke der Orchideenwurzel werden gut mit Seife gewaschen, einige Sekunden in 70prozentigen Alkohol getaucht und mit sterilem Fließpapier getrocknet. Sodann faßt man sie mit den aseptisch gemachten Fingern und schneidet mit abgeflammtem Messer ein Stückchen von der Wurzel ab. Weiter nimmt man die Röhre aus dem Papier, zieht den Glasfaden genügend weit zurück und führt das Ende der Kapillare derart in die Schnittfläche ein, daß die Epidermis der Wurzel nicht berührt, jedoch ein Teil der darunter liegenden Pilzschicht getroffen wird. Ist die Kapillare mehrere Millimeter tief eingedrungen, zieht man sie ein wenig zurück, schneidet die Wurzel an der vor dem Ende der Kapillare liegenden Stelle ab und streift den äußeren Wurzelteil auf das dicke Ende der Röhre, wo er aufreißt und abfällt. Das ausgestanzte Stück wird nun mit der Kapillare tief in den Kulturboden eingeführt und mit dem Glasfaden herausgestoßen.“

Eine Ansäuerung des Nährbodens zum Zweck der Bakterienbekämpfung ist nicht angebracht: Schon 2 cc Normal-Milchsäure auf 100 cc Nährmedium machen das Wachstum der Orchideenwurzelpilze im allgemeinen unmöglich.

Als Nährboden empfiehlt Verf. Fadenagar, mit Regenwasser hergerichtet, nebst einer Spur Stärke. *Küster (Kiel).*

Saxton, W. T., Preliminary account of the ovule, gametophytes and embryo of Widdringtonia cupressoides (Botan. Gaz. vol. XLVIII, 1909, no. 3, p. 161).

Von den zahlreichen Fixiermitteln, die Verf. erprobt hat, war CHAMBERLAINS Gemisch bei nachfolgend angegebener Zusammensetzung das beste:

Pikrinsäure, konzentrierte Lösung in 50proz. Alkohol	100 cc
Eisessig	5 „
Sublimat	5 g

Die Objekte blieben 24 Stunden in dem Fixiergemisch, wurden dann in 50prozentigem Alkohol so lange ausgewaschen, bis keine gelbe Farbe mehr von den Objekten abgegeben wurde (eine Woche lang oder noch länger), kamen dann auf 12 bis 24 Stunden in 75-, 85- und 94prozentigen Alkohol und schließlich auf 60 Stunden in absoluten Alkohol, der dreimal oder öfter gewechselt wurde. Hiernach Zedernholzöl, dann je 48 Stunden in 25-, 50- und 75prozentiger Lösung von Paraffin in Zedernholzöl, sowie in reinem Paraffin (48°), dann 12 bis 24 Stunden in einer Mischung von hartem und weichem Paraffin (ersteres mit 55° Schmelzpunkt) und in hartem ohne Zusatz.

Gefärbt wurde mit FLEMMINGS Gemisch und namentlich mit DELAFIELDS Hämatoxylin. *Küster (Kiel).*

Eckerson, S., On the demonstration of the formation of starch in leaves (Botan. Gaz. vol. XLVIII, 1909, no. 3, p. 224).

Zur Untersuchung auf Stärke nach der SACHSschen Methode (Verf. nahm 5 g Jodkali, 1 g Jod, 10 cc Wasser, nach Lösung wird bis auf 1 Liter Wasser aufgefüllt) werden Blätter von Pelargonium hortorum zonale, Fuchsia speciosa, Senecio mikanioides, Impatiens Sultani, junge Pflanzen von Helianthus annuus, Ricinus communis, Phaseolus vulgaris, Zea Mays und Cucurbita Pepo empfohlen.

Küster (Kiel).

Herzog, A., Zur Kenntnis der Doppelbrechung der Baumwollfaser (Zeitschr. f. Chemie u. Industrie d. Kalloide Bd. V, 1909, H. 5, p. 246—248).

Verf. findet bei Untersuchung von Baumwollfasern im polarisierten Lichte, daß die Längsachse der Elastizitätsellipse nicht in

die Richtung der Faserlängsachse fällt, sondern mit dieser einen mehr oder weniger großen Winkel bildet. Meist zeigt die Längsachse der Elastizitätsellipse linksläufige Richtung; doch sind Anomalien gar nicht selten, bei welchen streckenweise jene Ellipsenlängsachse parallel zur Faserachse oder gar rechtsläufig verläuft. Verf. empfiehlt die Baumwollfasern vor der Untersuchung in konzentrierte wässerige Lösung von Chloralhydrat zu legen und einmal auf dem Objektträger aufzukochen. Sehr gut lassen sich die Brechungsanomalien an merzerisierter Baumwolle studieren, die bei Anwendung von Kanadabalsam oder sogar schon in Wasser hinreichend durchsichtig erscheint. Bei Untersuchung roher Fasern lassen sich die optischen Eigentümlichkeiten besonders bei denjenigen Sorten beobachten, die bei großer Feinheit durch relativ starke Membranen gekennzeichnet sind (Maco, Sea-Island); seltener, aber auffälliger ist der Wechsel der Polarisationsfarben bei den breiteren, mittelamerikanischen und indischen Sorten.

Küster (Kiel).

Gorodkowa, A. A., Über das Verfahren, rasch die Sporen von Hefepilzen zu gewinnen (Bull. Jard. imp. bot. St-Pétersbourg; Ref. in Bull. Inst. Pasteur t. VII, 1909, no. 19, p. 813).

Von Saccharomyces cerevisiae erhielt Verf. auf folgende Weise Sporen. Junge, reine Hefezellen werden auf schrägerstarrten Nährböden von folgender Zusammensetzung ausgesät:

Wasser	100 cc	
Agar	1	Prozent
Pepton	1	„
Fleischbouillon	1	„
Chlornatrium	0·5	„
Glukose	0·25	„

Bringt man die Kulturen in eine Temperatur von 28°, so bilden sich nach 2 bis 3 Tagen Sporen.

Wichtig ist der Gehalt des Nährbodens an Glukose; wenn der Glukosegehalt 5 Prozent beträgt, so tritt lebhafte Sprossung ein, aber die Sporenbildung bleibt aus. Die sporenbildenden Kulturen auf glukosearmem Boden unterscheiden sich schon makroskopisch durch ihr Aussehen von den lebhaft sprossenden. *Küster (Kiel).*

E. Mineralogisch-Petrographisches. Physikalisches.

Pöschl, V., Die Härte der festen Körper. Dresden (Steinkopff) 1909; 84 pp., 4 Figg. im Text u. 1 Tfl.

Verf. schildert die verschiedenen Methoden der Härtemessung, die sich den verschiedenen Definitionen des schwankenden Begriffes „Härte" im Laufe der Zeit angepaßt haben: Die Ritzmethode von Werner, Hauy, Mohs; Hobeln, Schleifen, Kerben, Bohren; Härte als Scherfestigkeit (Definition von Kick) und als Tenazität und die auf Heinr. Hertz gestützte Druckmethode von Auerbach.

Verf. nimmt ein „Bestreben" der Kristalle an, ihre natürliche Oberflächenspannung zu bewahren; dieses „Bestreben" scheint mir in Beziehung zu stehen zu der „Oberflächenfestigkeit", welche W. Voigt zur Erklärung der verschiedenen Zerreißungsfestigkeiten von Kristallprismen von gleicher Längsorientierung und Querschnittsgröße, aber verschiedener Querschnittsform einführte.

Pöschl erhofft — in erster Linie molekulartheoretische Ziele verfolgend — von seiner Methode eine Anwendungsmöglichkeit in der Technik; er lehnt sich an die Ritzmethode von Grailich und Pekárek an, indem er deren Sklerometer mit dem Mikroskop verbindet, mißt aber nicht die Minimalbelastung zur Erzeugung eines noch eben sichtbaren Ritzes, sondern die Belastung zur Erzeugung eines Ritzes von irgendwelchen Breiten und Tiefen, die unter dem Mikroskop ausgemessen werden. Da ihm der Winkel der ritzenden Diamantspitze bekannt ist, kann er so das Volumen der Ritzfurche ermitteln. Zur idealen Messung der Oberflächenspannung dürfte freilich nur die oberste Molekülschicht geritzt werden, während Pöschl bei seinen Versuchen offenbar Tausende von Molekülschichten durchpflügt und daher wohl ein Gemisch von Härte, Kohäsion usw. ermittelt.

Pöschl findet im Gegensatz zu Exner, daß die Härte einer Kristallfläche sich mit der Richtung im allgemeinen nicht ändert. Ritzt man auf einer Fläche senkrecht zur Spur einer Spaltbarkeit, so erscheinen senkrecht zum „Härteritz" zahlreiche Spaltungsrisse, die für das bloße Auge den Härteritz breiter erscheinen lassen, unter dem Mikroskop aber unabhängig von jenem als solche

zu erkennen sind. So glaubte Exner, der ohne Mikroskop arbeitete, verschiedene Breite der Ritze parallel und senkrecht zur Spaltbarkeit zu beobachten.

„Für das Gefühl" ist die Härte oft größer beim Ritzen senkrecht zur Spaltungstrasse als parallel zu ihr, weil im ersteren Falle viele Schichtenköpfe überquert werden müssen.

Versuche an Steinsalz, Flußspat, Kalkspat, Apatit, Feldspat, Quarz, Topas, Talk, Gips, Aragonit, Bleiglanz, Antimonit, Pyrit, Realgar, Opal, sowie an polierteu Aggregaten von Platin, Kupfer, Aluminium und Messing.

Verf. beobachtete beim Ritzen senkrecht zur Spaltungstrasse einen weniger breiten Härteritz als senkrecht dazu und erklärt dieses damit, daß im ersteren Falle ein Teil der aufgewendeten Energie zur Erzeugung von Spaltungsklüften verbraucht werde.

Obwohl dem Büchlein eine gewisse Originalität nicht abgesprochen und an der Sorgfalt der Experimentaluntersuchungen nicht gezweifelt werden soll, so haben doch mannigfache Umstände den Verf. an einer schärferen Fixierung der Begriffe und an tieferem Eindringen in das Problem gehindert und ihn zu nicht sehr haltbaren Hypothesen verleitet.

Am Kalkspat werden die Lamellen der einfachen Schiebung für Spaltungsrisse gehalten. Der Einfluß von Gleitflächen auf die Ritzbarkeit wird ignoriert. Abgesehen von den deutlich sichtbaren Spaltflächen werden keine Richtungsverschiedenheiten der Kohäsion angenommen. „Löslichkeit" und Härte werden für proportional erklärt, wobei sich die „Löslichkeit" bald auf Wasser bezieht, bald die Zersetzungsgeschwindigkeit in Säuren bedeutet; auch wird hierbei übersehen, daß die Löslichkeiten zweier Substanzen in verschiedenen Lösungsmitteln (wie z. B. in Wasser und in Alkohol) durchaus nicht im konstanten Verhältnis stehen. Auch ist nicht ersichtlich, wie man zu solchen Vergleichen ein Mittel aus den verschiedenen Härten eines Kristalls gewinnen soll. Zur Erklärung verschiedener Härten und verschiedener Dichten polymorpher Modifikationen operiert Verf. mit kugelförmigen (bzw. ellipsoïdischen) Molekeln und relativ dichten Lagerungen derselben, und widerspricht hierbei der Tatsache, daß die dichteste Lagerung nicht dem hexagonalen, sondern dem regulären System zugehört. Beim Vergleich der Härten des Covellin- und des Kupferglanzes wird wiederum die Struktur herangezogen und dabei übersehen, daß pseudohexagonale Kristalle den hexagonalen in ihrer Struktur beliebig nahe stehen können.

Johnsen (Kiel).

Neue Literatur.

1. Lehr- und Handbücher.

Bailey, Fr. R., a. **Miller, A. M.,** Text-book of Embryology. XVI a. 672 pp. London (J. a. A. Churchill) 1909. 21 s.

Cajal, Ramón J., Histologie comparée du système nerveux de l'Homme et des Vertébrés. Édition française revue et mise à jour par l'auteur, traduite de l'espagnol par L. Azoulay. 444 figg. Paris. Vol. 1. 8°. 2 Vol. 42 M.

Ellis, D., Outlines of Bacteriology (Technical and Agricultural). XII a. 262 pp. London (Longmans, Green a. Co.) 1909. 7 s 6 d.

Jago, W., A manual of forensic chemistry, dealing especially with chemical evidence: its preparation and adduction. Based upon a course of lectures delivered at University College. VIII a. 256 pp. London (Stevens a. Haynes) 1909. 5 s.

Sahli, H., Lehrbuch der klinischen Untersuchungsmethoden für Studierende und praktische Ärzte. 5., umgearb. u, ergänzte Aufl. Mit 389 Abbild. u. 7 lithogr. Tafeln. 2 Bde. Leipzig-Wien (Franz Deuticke) 1909. 1366 pp. 28 M.

Scale, F. Sh., Practical microscopy. An introduction to microscopical methods. Second Edition. XVI a. 334 pp. London (Baillière, Tindall a. Cox) 1909. 5 s.

Vialleton, L., Précis de Technique histologique et embryologique. Guide à l'étudiant aux travaux pratiques d'histologie. 2. édition, augmentée. 12 tabl. et 86 figg. Paris. 480 pp. 7·50 M.

2. Mikroskop und mikroskopische Apparate.

a. Neue Mikroskope.

Koristka's Large Model I (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 6, p. 765; vgl. Koristkas Katalog No. XIII, 1908, p. 8 u. 9).

b. Objekttisch.

Swift and Son's stage goniometer (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 5, p. 646).

c. Beleuchtungsapparate.

Koristka's Paraboloid Condensor (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 6, p. 770; vgl. Koristkas Katalog No. XIII, 1908, p. 55).

Watson's new Holos immersion paraboloid (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 5, p. 647).

d. Heizvorrichtung.

(**Boeke, H. E.,**) Arrangement for microscopical observations at extreme temperatures (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 6, p. 768; vgl. Zeitschr. f. Instrumentenkde. Bd. XIX, 1909, p. 72—74).

e. Lupen.

Dissecting stand with lens (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 6, p. 764; vgl. Cambridge Scientific instruments Co., Ltd., Cad. No. 57, 1909, p. 10).

f. Verschiedenes.

(**Berget, A.**,) Divergent microscopical amplifier (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 5, p. 641; vgl. Compt. Rend. Acad. Sc. Paris t. CXLVIII, 1909, p. 1097—1099).

(**Clerici, E.**,) Simple arrangement for determining microscopically the index of refraction (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 5, p. 649; vgl. Atti R. Accad. dei Lincei vol. XVIII, ser. 5, 1909, p. 351—355).

(**Gifford, J. W.**,) Improved triple object-glass (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 6, p. 765; vgl. Monthly Notice Roy. Astron. Soc. vol. LXIX, 1908, p. 118—125; The Observatory 1909, p. 41—42).

(**Keeley, F. J.**,) Microscopical image formation (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 6, p. 772; vgl. Proc. Acad. Nat. Sci. Philadelphia vol. LXI, 1909, p. 177—192).

(**Lord Rayleigh**,) Apparatus for measurements of the defining power of objectives (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 5, p. 641; vgl. Proc. Roy. Soc., Ser. A, vol. LXXXII, 1909, p. 307—314).

Schertel, S., Über frühere mikroskopische Forschungen und Bilder II (Mikrokosmos Jahrg. III, 1909/10, H. 2).

(**Stoney, J.**,) Telescopic vision (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 5, p. 649; vgl. Philos. Magaz. vol. XVI, 1908, Aug., Nov., Dec.).

Old microscopes by George Adams (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 5, p. 633).

Royal microscopical Society's microscopes at the Franco-british Exhibition (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 5, p. 651—660).

---

3. Mikrophotographie und Projektion.

Bagshaw, W., Elementary Photomicrography. London (Hiffe a. Sons) 1909. 45 illustr.

Berndt, W., Das Stereoskop als Hilfsmittel der Biontologie (Naturwiss. Wochenschr., N. F., Bd. IX, 1910, No. 1, p. 1).

Brown, G. E., The british journal photographic almanac 1910. London (H. Greenwood a. Co.). 1320 pp. 1 s.

(**Chevroton, L.**,) Chromophotomicrography (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 5, p. 648; vgl. Compt. Rend. S. Biol. t. LXVI, 1909, p. 340—342).

Dubreuil, G., Episcope projecteur. Appareil pour la reproduction et l'agrandissement des dessins. Utilisation pour la reproduction en planches murales (Bibliogr. Anat. t. XIX, fasc. 1, p. 15—24, 4 figg.).

(**Fournier d'Albe, E. E.**,) Photography by reflection under contact (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 5, p. 647; vgl. Sci. Proc. Roy. Dublin Soc. vol. XII, 1909, p. 97—100).

Ganzini, M., Le proiezioni fisse e cinematografiche alla luce diurna (Bull. mens. soc. fot. ital. 1909, p. 9).

König, E., Die Herstellung stereoskopischer Projektionsbilder mit Hilfe der Pinatypie (Photogr. Mitteil. 1908, p. 523).

Krüß, P., Die Stellung der Kohlen bei Projektionslampen (Phot. Industrie 1908, p. 742).

(**Lehmann, H.**,) Highly reflecting lantern screens for autochrome and other projections (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 6, p. 769; vgl. Monthly Suppl. brit. Journ. of Photogr. vol. III, 1909, no. 30, p. 44—47).

Lüppo-Cramer, Kolloidchemie und Photographie. Dresden (Theod. Steinkopff) 1908. 8°. VI + 154 pp., 2 Figg., 3 Tfln. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 548.) 5 M.

Mayer, A., Eine neue unsymmetrische Kondensorkombination für Projektionsapparate (Photogr. Rundschau 1908, p. 259).

Nixon, J., Enlarging by lantern (The amateur photographer vol. XLIX, p. 149).

Wallon, M. E., Nouvelle lampe à arc courant continu à 110 volts de M. Turillon (Bull. Soc. Franç. de Photogr. 1909, p. 89).

Koristka's projection apparatus for liquid (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 6, p. 771; vgl. Koristkas Katalog No. III, 1908, p. 91—96).

Physik, einschließlich Instrumentenkunde und wissenschaftliche Photographie. Berichte aus den naturwissenschaftlichen Abteilungen der 81. Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte in Salzburg, September 1909 (vgl. Naturwiss. Rundschau 1909, No. 51, p. 657).

4. Präparationsmethoden im allgemeinen.

Don, J., The filtration and purification of water for public supply (Proc. Inst. Mech. Eng., 1909, p. 1—209 w. 3 plts.).

(**Gobbi, E.**,) Metal filter (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 5, p. 667; vgl. Compt. Rend. Acad. Sc. Paris t. CXLVIII, 1909, p. 1126—1128).

H. M. C., Mounting Slides (Engl. Mechanic vol. XC, 1909, p. 165, 189—190, 212).

Liesegang, R. E., Eine Farbreaktion der Gelatine (Zeitschr. f. Chemie u. Industrie d. Kolloïde Bd. V, 1909, H. 5, p. 248).

Lüppo-Cramer, Nachweis von Chloridspuren in der Gelatine (Zeitschr. f. Chemie u. Industrie d. Kolloïde Bd. V, 1909, H. 5, p. 249).

Kitt, Th., Nachtrag zu meinem Artikel: „Eine praktische Pipette" (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. LII, 1909, H. 3, p. 431—432).

Mc Donald, S. A., Micrometer attachment (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 6, p. 785; vgl. Engl. Mechanic vol. XC, 1909, p. 178).

Pelet-Jolivet, L., u. **Siegrist, H.**, Über den Einfluß der Elektrolyte in verschiedenen Konzentrationen auf die Färbung (Zeitschr. f. Chemie u. Industrie d. Kolloïde Bd. V, 1909, H. 5, p. 235—237).

(**Reid, E. E.**,) Ein elektrisch kontrollierter Gasregulator (Deutsche Mech.-Zeitg. 1909, H. 21, p. 208; vgl. Amer. Chem. Journ. vol. XLI, 1909, p. 148; Chem.-Zeitg. Reg. Bd. XXXIII, 1909, p. 177).

Ruttner, F., Über die Anwendung von Filtration und Zentrifugierung bei den planktologischen Arbeiten an den Lunzer Seen (Intern. Rev. ges. Hydrobiol. u. Hydrogr. Bd. II, 1909, p. 174—181).

Steele, B. D., a. **Grant, K.**, Sensitive micro-balances and new method of weighing minute quantities (Proc. R. Soc. Ser. A, no. 258, vol. LXXXII, pt. 8, London 1909).

Stone, G. E., Influence of electricity on microorganisms (Botan. Gaz. vol. XLVIII, 1909, no. 5, p. 359).

(**Wendler, A.**,) Ein Umkehrvolumeter zur Raumbestimmung kleiner Körper (Deutsche Mech.-Zeitg. 1909, H. 22, p. 234; vgl. Zeitschr. f. phys. u. chem. Unterricht Bd. XXII, 1909, p. 237).

(**Wüstenfeld, H.**,) Vorrichtung zur Vermeidung des Überlaufens offener, mit Wasser gespeister Behälter (Deutsche Mech.-Zeitg. 1909, H. 21, p. 209; vgl. Chem.-Zeitg. Bd. XXXIII, 1909, p. 412).

Anleitung zum Sammeln, Konservieren und Verpacken von Tieren für das Zoologische Museum in Berlin. Dritte vermehrte Ausgabe. 1908. 109 pp. Oktav. 2 M.

Twest's Neutral-red and Lightgreen stain (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 5, p. 666; vgl. Quart. Journ. Microsc. Sci. vol. LIII, 1909, p. 755—808).

5. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

a. Niedere Tiere.

des **Arts, L.**, Über die Muskulatur der Hirudineen (Jenaische Zeitschr. f. Naturw. Bd. XLIV, 1909, p. 415—464 m. 3 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 554).

Dietrich, W., Die Facettenaugen der Dipteren (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCII, 1909, p. 465—539 m. 17 Figg. u. 4 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 549).

(**Gelderd, C.**,) Examining and mounting the digestive system of Schizopoda (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 5, p. 667; vgl. La Cellule t. XXV, 1909, p. 7—68).

Gläser, H., Zur Entwicklungsgeschichte des Cysticercus longicollis Rud. (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCII, 1909, p. 540—561 m. 1 Figg. u. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 550).

Jonescu, C. N., Vergleichende Untersuchungen über das Gehirn der Honigbiene (Jenaische Zeitschr. f. Naturw. Bd. XLV, 1909, p. 111—180 m. 13 Figg. u. 5 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 549).

Kutschera, F., Die Leuchtorgane von Acholoe astericola Clprd. (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCII, 1909, p. 75—102 m. 7 Figg. u. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 556).

Loeser, R., Beiträge zur Kenntnis der Wimperorgane (Wimpertrichter) der Hirudineen (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCIII, 1909, p. 1—63 m. 6 Figg. u. 3 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 552).

Naef, A., Die Organogenese des Cölomsystems und der zentralen Blutgefäße von Loligo (Jenaische Zeitschr. f. Naturw. Bd. XLV, 1909, p. 221—266 m. 14 Figg. u. 3 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 556).

Newton, A., Preparing insects and parts for mounting in Balsam (Trans. Manchester Micr. Soc. 1909, p. 79—80).

Prowazek, S. v., Einführung in die Physiologie der Einzelligen (Protozoën) (Naturwissenschaft und Technik in Lehre und Forschung, herausgegeb. von F. Doflein u. K. T. Fischer). Leipzig u. Berlin (B. G. Teubner) 1910. Mit 51 Abbild. im Text. 172 pp. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 558.) geb. 6 M.

Sterling, St., Das Blutgefäßsystem der Oligochäten. Embryologische und histologische Untersuchungen (Jenaische Zeitschr. f. Naturw. Bd. XLIV, 1909, p. 253—352 m. 16 Figg. u. 9 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 550).

Taube, E., Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Euphausiden. 1. Die Furchung des Eies bis zur Gastrulation (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCII, 1909, p. 427—464 m. 6 Figg. u. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 557).

Watkinson, G. B., Untersuchungen über die sogenannten Geruchsorgane der Cephalopoden (Jenaische Zeitschr. f. Naturw. Bd. XLIV, 1909, p. 353—414 m. 47 Figg. u. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 559).

Zielinska, J., Über Regenerationsvorgänge bei Lumbriciden. Regeneration des Hinterendes (Jenaische Zeitschr. f. Naturw. Bd. XLIV, 1909, p. 467—526 m. 3 Figg. u. 5 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 554).

---

b. Wirbeltiere.

Beckton, H., Absence of Altmann's granules in cancer cells (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 6, p. 784; vgl. Brit. Med. Journ. vol. II, 1909, p. 859—861).

Brandts, E., Über Einschlüsse im Kern der Leberzelle und ihre Beziehungen zur Pigmentbildung a) beim Hunde, b) beim Menschen (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XLV, 1909, H. 3, p. 457—475 m. 4 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 567).

(**Chevroton, L.**, et **Vlès, F.**,) Examen de la striation musculaire en lumière ultra-violette (Compt. Rend. Soc. Biol. vol. LXVI, 1909, p. 1057—1059).

Ehrlich, P., Beiträge zur experimentellen Pathologie und Chemotherapie. Leipzig (Akad. Verlagsges.) 1909. 247 pp. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 572.)

Fischer, O., Über die Herkunft der Lymphocyten in den ersten Stadien der Entzündung. Experimentelle Studie (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XLV, 1909, H. 3, p. 400—423; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 561).

Goldmann, E., Die äußere und innere Sekretion des gesunden Organismus im Lichte der „vitalen Färbung". Mit 15 lithograph. Tfln. Tübingen (Lauppsche Buchhandl.) 1909. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 559.) 5 M.

Lederer, R., Veränderungen an den Stäbchen der Froschnetzhaut unter Einwirkung von Licht und Dunkelheit (Zentralbl. f. Physiol. Bd. XXII, 1908, No. 24, p. 762—764 m. 6 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 570).

Lhermitte, J., et **Guccione, A.**, Nouvelle méthode de coloration pour l'étude de la névroglie [cellules et fibrilles] (La Semaine médicale Année XXIX, 1909, no. 18, p. 205—207 av. 7 figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 569).

Regaud, C., et **Mawas, J.**, Ergastoplasma et mitochondries dans les cellules dans la glande sous-maxillaire de l'homme (C. R. Soc. Biol. Paris t. LXVI, 1909, no. 11, p. 461—463; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 565).

Russakoff, A., Über die Gitterfasern der Lunge unter normalen und pathologischen Verhältnissen. Zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der feinsten Stützsubstanz einiger Parenchyme (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XLV, 1909, H. 3, p. 476—506; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 567).

Schilling, V., Zur Morphologie, Biologie und Pathologie der Kupfferschen Sternzellen der menschlichen Leber (Virchows Arch. Bd. CXCVI, 1909, H. 1, p. 1—68 m. 1 Tfl. u. 3 Textfigg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 565).

Schmidt, W. J., Beiträge zur Kenntnis der Parietalorgane der Saurier (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCII, 1909, p. 359—426 m. 23 Figg. u. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 571).

Schmincke, A., Die Regeneration der quergestreiften Muskelfasern bei den Säugetieren (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. XLV, 1909, H. 3, p. 424—439 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 562).

Schröder, R., Die Drüsenepithelveränderungen der Uterusschleimhaut im Intervall und Prämenstruum (Arch. f. Gynäkol. Bd. LXXXVIII, 1909, H. 1, p. 1—28 m. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 567).

Tarapani, H., Zur Entwicklungsgeschichte des Hyobranchialskelettes von Salamandra atra Laur. und Triton alpestris Laur. (Jenaische Zeitschr. f. Naturw. Bd. XLV, 1909, p. 57—110 m. 6 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 562).

Tojbin, R., Ein Apparat zur Zählung und Berechnung der Blutkörper (Med. Klinik Jahrg. V, No. 45, p. 1712).

Verocay, R., Über ein neues Verfahren zur Färbung des Bindegewebes (Verh. Ges. Deutsch. Naturf. u. Ärzte 80. Vers. Cöln 1908, 2. Teil, 2. Hälfte, p. 52—55).

Wada, T., Über die Unterscheidung der Menschen- und Tierknochen (Vierteljahrschr. f. gerichtl. Medizin u. öffentlich. Sanitätswesen, 3. F., Bd. XXXVII, 1909, H. 2, p. 265—278 m. 6 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 563).

Weichardt, W., Technische Bemerkungen (Verh. Ges. Deutsch. Naturf. u. Ärzte 80. Vers. Cöln 1908, 2. Teil, 2. Hälfte, p. 558).

Zürcher, L., Histologie der Körper- und Darmmuskulatur und des Hämocöls von Owenia (Jenaische Zeitschr. f. Naturw. Bd. XLV, 1909, p. 181—220 m. 4 Figg. u. 6 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 562).

---

c. Mikroorganismen.

Berger, K., Vergleichende färberische Nachprüfung der von Ziehl-Neelsen, Much und Gasis empfohlenen Färbemethoden für Tuberkelbazillen und einige Versuche über Umfärbung bereits gefärbter Bazillen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Bd. LIII, H. 2, p. 174; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 575).

(**Brem**,) Tuberkelbazillen im Blut (Deutsche med. Wochenschr. 1909, No. 41, p. 1802; vgl. Journ. of Amer. Assoc. Sept. 1909).

Calmette, Massol et **Breton**, Milieux de culture pour le bacille tuberculeux (Compt. Rend. Soc. Biol. vol. LXVII, 1909, p. 580; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 573).

Cardamatis, J. P., Le paludisme des oiseaux en Grèce. Étude biologique et histologique du parasite de Danilewsky (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. LII, 1909, H. 3, p. 351—367).

Chanveau, A., Les microbes pathogènes invisibles et les preuves physiques de leur existence (Compt. Rend. Acad. Sc. Paris t. CXLVIII, 1909, p. 1067—1073).

Ciuca, A., et **Stoicesco, G.**, Le diagnostic bactériologique du charbon par cultures de la peau (Réun. biol. de Bucarest, Compt. Rend. Soc. Biol. t. LXVII, 1909, p. 140; vgl. Bull. Inst. Pasteur t. VII, 1909, no. 19, p. 813).

Conn, W. H., Agricultural Bacteriology. 2. edition. Philadelphia 1909. 8. 341 pp. w. 64 figg. 10 M.

Coplans, M., Influences affecting the growth of microorganisms: latency-inhibition, mass action (Journ. of path. and bact. vol. XIV, 1909, p. 1).

Dangeard, Notes sur la structure d'une Bactériacée, le Chromatium Okenii (Bull. Soc. botan. de France t. LVI, 1909, no. 5; vgl. Bull. Inst. Pasteur t. VII, 1909, no. 22, p. 965).

Dobell, C. Cl., Physiological degeneration and death in Entamoeba ranarum (Quart. Journ. of Micr. Sc. vol. LIII, 1909, p. 711—721).

Esch, P., Ein Beitrag zur Züchtung des Meningococcus (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. LII, 1909, H. 1, p. 150—154; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 579).

(**Fautham, H. B.**, a. **Porter, A.**,) The modes of division of Spirochaeta recurrentis and S. Duttoni as observed in the living organisms (Bull. Inst. Pasteur t. VII, 1909, no. 21, p. 911; vgl. Roy. Soc. 1909).

Fauré-Frémiet, E., Sur un cas de symbiose présenté par un infusoire cilié (Compt. Rend. Soc. Biol. t. LXVII, 1909, p. 113).

(**Fest** u. **Noag**,) Zählen der Bakterien im Blut (Deutsche med. Wochenschr. 1909, No. 48, p. 2134; vgl. Journ. of Amer. Assoc. 30. Okt. 1909).

(**Feoktistow**,) Anlegung von Kulturen aus Gewebsstücken (Deutsche med. Wochenschr. 1909, No. 37, p. 1625; vgl. Russk. Wratsch 1909, No. 32; diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 500).

Frosch, P., u. **Bierbaum, K.**, Über eine durch den Bacillus septicaemiae anserum exsudativae (Riemer) bedingte Gänseseuche, zugleich ein Beitrag zur Frage der Pseudoinfluenzabazillen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. LII, 1909, H. 4, p. 433—440).

Gauducheau, A., Sur une culture amibienne. Deuxième note: Étude de l'amibe (Bull. Soc. Path. exot. t. II, 1909, p. 370; vgl. Bull. Inst. Pasteur t. VII, 1909, no. 21, p. 917).

Gins, H., Zur Technik und Verwendbarkeit des Burrischen Tuscheverfahrens (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Bd. LII, H. 5, p. 620; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 576).

Greeff, Die Erreger des Trachoms (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. XXXV, 1909, No. 12, p. 517—519 m. 8 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 572).

Guillemard, Diversité des résistences des Bactéries à la pression osmotique (Compt. Rend. Soc. Biol. vol. LXVII, 1909, p. 538; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 574).

Hachla, J., u. **Holobut, Th.**, Beitrag zur Frage elektiver Nährböden für Choleravibrionen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. LII, 1909, No. 2, p. 299—304; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 579).

Hecht, V., u. **Wilenko, M.**, Über die Untersuchung der Spirochaete pallida mit dem Tuscheverfahren (Wiener klin. Wochenschr. Bd. XXII, 1909, p. 932).

Jacobson, La recherche du bacille de Koch par la méthode de l'antiformine-ligroïne (Compt. Rend. Soc. Biol. vol. LXVII, 1909, p. 507; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 574).

Jordan, E. O., Textbook of general Bacteriology (incl. path. Fungi and Protozoa). Philadelphia 1908. 8. 557 pp. w. 163 figg. 15 M.

Kathe u. **Blasius**, Vergleichende Untersuchungen über die Leistungsfähigkeit älterer und neuerer Typhusnährböden (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Bd. LII, H. 5, p. 586; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 577).

Kersten, H. E., Über einen neuen säure- und alkoholfesten Erdbazillus, nebst kurzen Bemerkungen über die zu seiner Isolierung angewandten Methode [Antiforminmethode nach Uhlenhuth und Kersten] (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. LI, 1909, H. 5, p. 494—497).

Kißkalt u. **Hartmann**, Praktikum der Bakteriologie und Protozoologie. 2. Aufl. [2 Teile]. Teil I: Bakteriologie von KISSKALT. Jena 1909. 170 pp., 40 Figg.

Koch, Th., Über Sputumuntersuchungen (Zeitschr. f. angew. Mikrosk. u. klin. Chemie Bd. XV, H. 4, p. 85; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 577).

Kolle, W., u. **Wassermann, A.**, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Unter Mitwirkung von R. ABEL, T. ESCHERICH, A. HANSEN, E. METSCHNIKOFF u. a., nebst mikroskopischem Atlas, zusammengestellt von E. ZETTNOW. Ergänzungsbd. II. Jena (G. Fischer) 1908. 600 pp. m. 2 kolor. Tfln. u. 18 Figg. 19·50 M.

Lafont, A., Sur la présence d'un parasite de la classe des Flagellés dans le latex de l'Euphorbia pilulifera (Compt. Rend. Soc. Biol. t. LXVI. 1909, p. 1011; Bull. Soc. Path. exot. t. II, 1909, p. 344).

Laubenheimer, K., Das DIEUDONNÉsche Blutalkaliagar als Elektivnährboden für Choleravibrionen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. LII, 1909, No. 2, p. 294—298; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 578).

Léger, M., et **Mathis, C.**, Leucocytozoon de la perdrix du Tonkin (Ann. de l'Inst. PASTEUR t. XXIII, 1909, no. 9, p. 740).

Mackinnon, D. L., Observations on the division of Spirochaetes. Observations on the effect of various chemical reagents on the Morphology of Spirochaetes (Parasitology vol. II, 1909, p. 267—282).

Martin, C. H., Preliminary note on Tripanosoma Eberthi KENT (= Spirochaete Eberthi LÜHE) and some other parasitic forms from the intestine of the fowl (Proc. Roy. Soc., Ser. B, vol. LXXXI, Oct. 1909, p. 385—391).

Marzocchi, V., Sul parassita del giallume del Bombyx mori [Microsporidium polyedricum BOLLE] (Arch. de Parasitologie t. XII, 1908, fasc. 3, p. 456; vgl. Notes préliminaires v. Riv. di Ig. e di san. pubbl. t. XVIII, 1907, t. XIX, 1908; R. Accad. di med. di Torino 1907; Bull. Inst. PASTEUR t. VII, 1909, no. 15, p. 644).

Megele, Erfahrungen mit dem neuen Malachitgrün-Agar PADLEWSKIs zum Nachweis von Bazillen der Typhusgruppe (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Bd. LII, H. 5, p. 616; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 576).

Minchin, E. A., Observations of the Flagellates parasitic in the blood of freshwater fishes (Proc. Zool. Soc. London 1909, p. 1—31 w. 5 plts.).

(**Minchin, E. A.**,) Demonstrating the structure of Trypanosoma Lewisi (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 5, p. 662; vgl. Quart. Journ. Microsc. Sci. vol. LIII, 1909, p. 755—808).

Neri, F., Jodoresistenza dei corpi di Negri e suo significato (Ann. Ig. sperim. t. XIX [n. ser.], 1909, fasc. 2, p. 195—207, 1 pl.; vgl. Bull. Inst. PASTEUR t. VII, 1909, p. 644).

Padlewski, L., Bemerkungen zu der Arbeit von Dr. F. GRIMM „Über den praktischen Wert einiger neuer Typhusnährböden" in No. 14 Hyg. Rundschau 1909, p. 13 (Hyg. Rundschau Bd. XIX, No. 24, p. 1388; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 580).

Porter, A., Amoeba Chironomi n. sp. = parasitic in the alimentary tract of the larva of a Chironomus (Parasitology vol. II, 1909, p. 32).

Rau, S., Vergleichende Untersuchungen über einige neuere Methoden von Tuberkelbazillen im Sputum (Hyg. Rundschau Bd. XIX, No. 23, p. 1333; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 579).

Reitz, A., Wie werden bakteriologische Untersuchungen gemacht? (Mikrokosmos Jahrg. III, 1909/10, H. 3).

(**Row, R.**,) Cultivating the parasite of oriental sore (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 5, p. 662; vgl. Quart. Journ. Microsc. Sci. vol. LIII, 1909, p. 747—754).

Ruß, Ch., The electrical reactions of certain Bacteria, and an application in the detection of tubercle Bacilli in urine by means of an electric current (Proc. Roy. Soc. London vol. LXXXI, 1909, 548, p. 314—322 w. 3 figg.).

Sachs-Mühe, Vergleichende Untersuchungen über die Typhusbazillenzüchtung aus kleinsten Blutgerinnseln vermittelst der Gallenanreicherung und des direkten Plattenausstriches (Klin. Jahrbuch Bd. XXI, H. 2, p. 233; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 580).

Schereschewsky, J., Bisherige Erfahrungen mit der gezüchteten Spirochaete pallida (Deutsche med. Wochenschr. 1909, No. 38, p. 1652).

Schumacher, Vergleichender Typhusnachweis mittels des kombinierten Endo-Malachitplattenverfahrens und des Conradischen Brillantgrünpikrinsäureagars (Klin. Jahrbuch Bd. XXI, H. 2, p. 209; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 580).

Sineff, A., u. **Drosdowitsch, R.**, Prof. Dieudonnés Blutalkaliagar, ein neuer Nährboden für die bakteriologische Diagnose der Cholera (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. LII, 1909, H. 3, p. 429—431).

Stone, G. E., Influence of electricity on microorganisms (Botan. Gaz. vol. XLVIII, 1909, 5, p. 359—379 w. 2 figg.).

Todd, D. D., The bacterial integrity of celloïdin and parchment membranes (Journ. of inf. dis. vol. VI, 1909, p. 369; vgl. Bull. Inst. Pasteur t. VII, 1909, p. 769).

(**Uhlenhuth, P.**,) Shaker (Kinotherm) for use at a desired temperature (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 6, p. 776; vgl. Zeitschr. f. Immunitätsforschung u. experiment. Therapie Bd. II, 1909, No. 3).

Uhlenhuth u. **Kersten**, Neue Methode zum kulturellen und mikroskopischen Nachweis von Tuberkelbazillen im Sputum und anderem tuberkulösem Material (Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Ther. Bd. VI, 1909, H. 3).

Vay, Fr., Über kernchenartige Bildungen in Pestbakterien (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. LII, 1909, H. 3, p. 305—318).

(**Verteuil, F. L. de**,) Staining Treponema pallidum (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 6, p. 783; vgl. Lancet vol. II, 1909, p. 884—885).

Vincenzi, L., Normale Cerebrospinalflüssigkeit als Nährboden für pathogene Bakterien (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. LII, 1909, H. 1, p. 154—156).

Yamamoto, J., Über den Lokomotionsapparat der Protistenzellen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Bd. LIII, 1909, H. 1, p. 38; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 575).

Zupitza, M., Beitrag zur Kenntnis der Vogel- und Fischtrypanosomen Kameruns (Beih. z. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1909, No. 3, 40 pp. u. 6 Tfln.).

d. Botanisches.

Brown, W. H., The embryo-sac of Habenaria (Botan. Gaz. vol. XLVIII, 1909, no. 4, p. 241).

Burgeff, H., Die Wurzelpilze der Orchideen, ihre Kultur und ihr Leben in der Pflanze. Mit 3 Tfln. u. 38 Abbild. im Text. IV und 220 pp. Jena (G. Fischer) 1909. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 581.)

Chamberlain, Ch. J., Methods in plant histology. 2. edit. (Chicago 1909, 8°, 272 pp., 88 ill.)

Clute, W. N., Laboratory Botany for the Higher School. Boston (Gins & Co.) 177 pp. 8°.

Comandon, J., Cinématographie, à l'ultramicroscope, de microbes vivants et des particules mobiles (Compt. Rend. Acad. Sc. Paris t. CXLIX, 1909, p. 938—941).

Eckerson, S., On the demonstration of the formation of starch in leaves (Botan. Gaz. vol. XLVIII, 1909, no. 3, p. 224; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 582).

(**Escoyez, E.**,) Demonstrating karyokinesis in Stypocaulon scoparium (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 5, p. 661; vgl. La Cellule t. XXV, 1909, p. 181—201).

Gorodkowa, A. A., Über das Verfahren, rasch die Sporen von Hefepilzen zu gewinnen (Bull. Jard. imp. bot. St-Pétersbourg; vgl. Ref. in Bull. Inst. Pasteur t. VII, 1909, no. 19, p. 813; diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 583).

Griggs, R. F., Mitosis in Synchytrium with some observations on the individuality of the chromosomes (Botan. Gaz. vol. XLVIII, 1909, no. 5, p. 539).

Halliburton, W. D., Chemistry of the cell nucleus (Science Progress. 1909, 14, p. 194—212).

Herzog, A., Zur Kenntnis der Doppelbrechung der Baumwollfaser (Zeitschr. f. Chemie u. Industrie d. Kolloïde Bd. V, 1909, H. 5, p. 246—248; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 582).

Jaehkel, P., Über Anatomie und Mikrochemie der Bananenfrucht und ihre Reifungserscheinungen. (Dissertation.) Kiel 1909. 42 pp.

Kahns, H., Zur Kenntnis der physiologischen Anatomie der Gattung Kleinia. (Dissertation.) Kiel 1909. 83 pp.

Kusano, S., Studies on the chemotactic and other related reactions of the swarm-spores of Myxomycetes (Journ. Coll. Agricult., Univ. Tokyo, vol. II, 1909, no. 1).

Kuwada, Y., On the development of the pollen and the embryo-sac, and the formation of the endosperm, etc. of Oryza sativa [P. N.] (Bot. Mag. Tokyo, vol. XXIII, 1909, 271, p. 333—343, 17 figg. Japanisch).

(**Lopez, A. E.**,) Double-staining vegetable tissue (Journ. R. Microsc. Soc. 1909, pt. 6, p. 782; vgl. Bol. R. Soc. Española hist. Nat. vol. IX, 1909, p. 237—238).

Maige, A., Sur la formation des chromosomes hétérotypiques chez l'Asphodelus microcarpus (Compt. Rend. Acad. Sc. Paris t. CXLIX, 1909, p. 1084—1086).

Meyer, K., Zur Lebensgeschichte der Trentepohlia umbrina Mart. (Bot. Zeitg. Abt. 1, Bd. LXVII, 1909, p. 25).

Migula, W., Die Desmidiaceen (Mikrokosmos Jahrg. III, 1909/10, H. 2).

Osborne, Ph. B., The vegetable proteïns. XIII a. 125 pp. With Bibliography. [Monographs on Biochemistry. Edited by Dr. A. Plimmer and Dr. F. G. Hopkins.] London (Longmans, Green & Co.) 1909.

Ottley, A. M., The development of the gametophytes and fertilization in Juniperus communis and Juniperus virginiana (Botan. Gaz. vol. XLVIII, 1909, no. 1, p. 31).

Raybaud, L., De l'influence des rayons ultra-violets sur le développement des moisissures (Compt. Rend. Acad. Sc. Paris t. CXLIX. 1909, p. 634).

Roussy, A., Sur la vie des champignons en milieux gras (Compt. Rend. Acad. Sc. Paris t. CXLIX, 1909, p. 482).

Saxton, W. T., Preliminary account of the ovule, gametophytes and embryo of Widdringtonia cupressoides (Botan. Gaz. vol. XLVIII, 1909, no. 3, p. 161; vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 582).

Stevens, F. L., a. Hall, J. G., Variation of fungi due to environment (Botan. Gaz. vol XLVIII, 1909, no. 1, p. 1).

Svedelius, N., Über lichtreflektierende Inhaltskörper in den Zellen einer tropischen Nitophyllum-Art (Svensk. Bot. Tidskr. Bd. III, 1909, p. 138—149).

Yamanouchi, Sh., Cytology of Cutleria and Aglaozonia (Botan. Gaz. vol. XLVIII, 1909, no. 5, p. 380).

e. Mineralogisch-Petrographisches. — Physikalisches.

Pöschl, V., Die Härte der festen Körper. Dresden (Steinkopff) 1909; 84 pp., 4 Figg. im Text u. 1 Tfl. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. XXVI, 1909, p. 584.)

Autoren-Register.

Sach-Register.

Druck von Fischer & Wittig in Leipzig.

Autorenregister.

Das vorliegende Heft (XXVI, 4) enthält Referate über die Arbeiten folgender Autoren:

Verlag von S. Hirzel in Leipzig

JAHRESBERICHT

über die Fortschritte in der Lehre von den

PATHOGENEN MIKROORGANISMEN

umfassend

BAKTERIEN, PILZE UND PROTOZOËN

Unter Mitwirkung von Fachgenossen bearbeitet

und herausgegeben

von

Dr. med. P. von BAUMGARTEN
o. ö. Professor der Pathologie an der Universität Tübingen

und

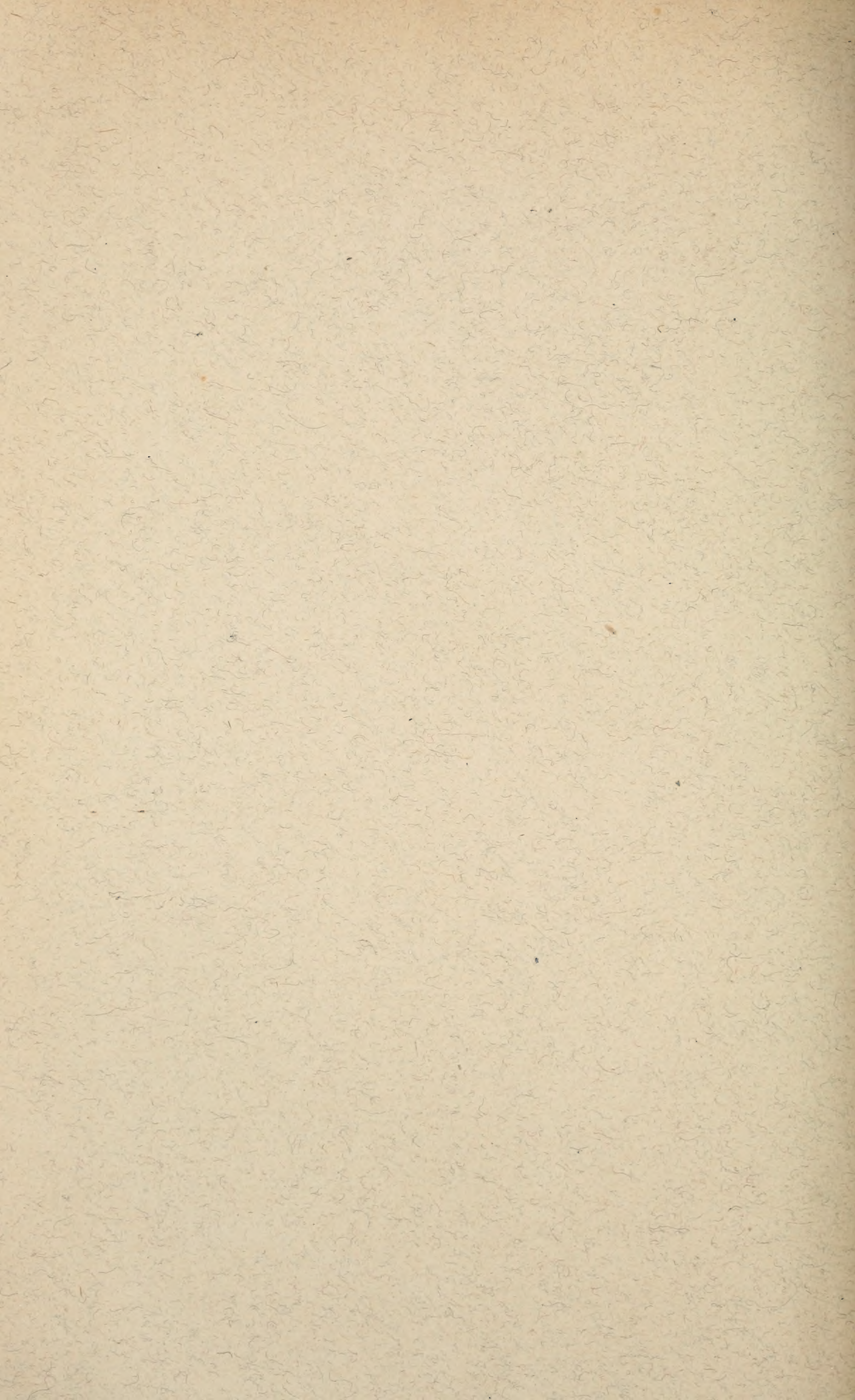
Dr. med. W. DIBBELT
1. Assistenten am Pathologischen Institut der Universität Tübingen.

Die Baumgarten'schen Jahresberichte erscheinen jährlich in einem Bande zum Preise von 30—40 Mark. Sie geben Auskunft über die gesamten bakteriologischen Forschungen auf der ganzen Welt und bilden so ein Nachschlagebuch, das auf dem Arbeitstische des medizinischen Forschers nicht fehlen darf. Bis jetzt sind Band I—XXIII (1885—1907) erschienen.









New York Botanical Garden
3 5185 00258

